

ANTICUERPOS ANTI-TAU Y MÉTODOS DE USO

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reclama el beneficio de prioridad de Solicitud Provisoria
5 Estadounidense No. 62/171.693, presentada el 5 de junio, 2015, la cual se
incorpora a la presente como referencia en su totalidad para cualquier propósito.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a anticuerpos anti-Tau y métodos de uso
de los mismos.

10 ANTECEDENTES

Los ovillos neurofibrilares e hilos del neurópilo (NTs, por sus siglas en
inglés) son las principales características neuropatológicas de la Enfermedad de
Alzheimer (EA). Los NTs están compuestos por la proteína Tau asociada a
microtúbulos que ha sido objeto de modificaciones postraduccionales incluyendo
15 fosforilación, y se desarrollan por la agregación de confórmers de Tau
hiperfosforilada. La EA comparte esta patología con muchas tauopatías
neurodegenerativas, en especial con ciertos tipos de demencia frontotemporal
(FTD, por sus siglas en inglés). La proteína Tau parece ser un jugador principal en
el fallecimiento cognitivo en la EA y en las tauopatías neurodegenerativas
20 relacionadas.

Los enfoques terapéuticos que apuntan hacia la proteína Tau son pocos y
comprenden principalmente a los inhibidores de las quinasas que se cree que
aumentan la fosforilación de Tau a niveles patológicos, y compuestos que
bloquean la agregación citoplásmica de la proteína Tau hiperfosforilada. Estos
25 enfoques sufren diversas desventajas de especificidad y eficacia. Existe la
necesidad de brindar agentes terapéuticos adicionales que se dirigen hacia los

confórmeros de proteínas patológicas que son conocidos o se presume que causan trastornos neurodegenerativos.

SÍNTESIS

La invención proporciona anticuerpos anti-Tau y métodos para su
5 utilización.

En algunas realizaciones, se provee un anticuerpo aislado que se une a Tau humana, donde el anticuerpo se une a Tau monomérica, Tau oligomérica, Tau no fosforilada, y Tau fosforilada. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a un epítipo dentro de los aminoácidos 2 a 24 de Tau humana madura. En
10 algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo humano, humanizado o quimérico. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo que se une a Tau humana. En algunas realizaciones, la Tau humana comprende la secuencia de SEC ID NO: 2.

15 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende:

- a) HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 12, 22, 282, 292, y 342; HVR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 13, 23, 283, 293, y 343; y HVR-H3 que comprende una secuencia de
20 aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 14, 24, 284, 294, y 344; o
- b) HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 72 y 302; HVR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 73 y 303; y HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC
25 ID NOs: 74 y 304;
- c) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 42; HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID

NO: 43; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 44;

d) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 62; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 63; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 64;

e) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 212; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 213; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 214;

f) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 32; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 33; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 34; o

g) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 52; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 53; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 54.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende:

a) HVR–L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 15, 25, 285, 295, 345, y 468 a 556; HVR–L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 16, 26, 286, 296, y 346; y HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 17, 27, 287, 297, y 347;

b) HVR–L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 75 y 305; HVR–L2 que comprende una secuencia

de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 76 y 306; y HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 77 y 307;

5 c) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 45; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 46; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 47;

10 d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 65; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 66; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 67;

15 e) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 215; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 216; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 217

f) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 35; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 36; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 37; o

20 g) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 55; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 56; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 57.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende:

25 a) HVR–H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 12, 22, 282, 292, y 342; HVR–H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 13, 23,

- 283, 293, y 343; HVR–H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 14, 24, 284, 294, y 344; HVR–L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 15, 25, 285, 295, 345, y 468 to 556; HVR–L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 16, 26, 286, 296, y 346; y HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 17, 27, 287, 297, y 347;
- b) HVR–H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 72 y 302; HVR–H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 73 y 303; HVR–H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 74 y 304; HVR–L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 75 y 305; HVR–L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 76 y 306; y HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 77 y 307;
- c) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 42; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 43; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 44; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 45; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 46; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 47;
- d) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 62; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 63; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC

ID NO: 64; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 65; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 66; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 67;

5 e) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 212; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 213; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 214; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 215; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 216; y HVR–L3 que comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 217;

f) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 32; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 33; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 34; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 35; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 36; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 37; o
15

g) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 52; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 53; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 54; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 55; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 56; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 57.
20
25

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende:

- a) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a una secuencia seleccionada entre SEC ID NOs: 10, 20, 280, 290, y 340;
- b) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a una secuencia seleccionada entre SEC ID NOs: 11, 21, 281, 291, y 341;
- c) una VH como en (a) y una VL como en (b);
- d) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a una secuencia seleccionada entre SEC ID NOs: 70, 300, y 452 a 459;
- e) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a una secuencia seleccionada entre SEC ID NOs: 71, 301, y 460 a 467;
- f) una VH como en (d) y una VL como en (e);
- g) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 40;
- h) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 41;
- i) una VH como en (g) y una VL como en (h);
- j) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 60;
- k) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 61;
- l) una VH como en (j) y una VL como en (k);
- m) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 210;

- n) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 211;
 - o) una VH como en (m) y una VL como en (n);
 - p) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 30;
 - q) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 31;
 - r) una VH como en (p) y una VL como en (q);
 - s) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 50;
 - t) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 51; o
 - u) una VH como en (s) y una VL como en (t).
- En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende:
- a) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia seleccionada entre SEC ID NOs: 10, 20, 280, 290, y 340;
 - b) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia seleccionada entre SEC ID NOs: 11, 21, 281, 291, y 341;
 - c) una VH como en (a) y una VL como en (b);
 - d) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia seleccionada entre SEC ID NOs: 70, 300, y 452 a 459;
 - e) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia seleccionada entre SEC ID NOs: 71, 301, y 460 a 467;
 - f) una VH como en (d) y una VL como en (e);
 - g) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 40;

- h) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 41;
- i) una VH como en (g) y una VL como en (h);
- j) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 60;
- k) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 61;
- l) una VH como en (j) y una VL como en (k);
- m) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 210;
- n) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 211;
- o) una VH como en (m) y una VL como en (n);
- p) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 30;
- q) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 31;
- r) una VH como en (p) y una VL como en (q);
- s) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 50;
- t) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 51; o
- u) una VH como en (s) y una VL como en (t).

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 342; HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 343; HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 344; HVR-L1 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 345; HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 346; y HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 347.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de
5 cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 340 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 341.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 348 o SEC ID NO:
10 602 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 349.

En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo aislado que se une a Tau humana, donde el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 348 o SEC ID NO: 602
15 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 349. En algunas realizaciones, se provee un anticuerpo aislado que se une a Tau humana, donde el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 348 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 349. En algunas
20 realizaciones, se provee un anticuerpo aislado que se une a Tau humana, donde el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 602 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 349. En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo aislado que se une a Tau humana, donde el anticuerpo
25 comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 348 o SEC ID NO: 602 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 349. En algunas realizaciones, se provee un anticuerpo aislado que se une a Tau humana, donde el anticuerpo

comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 348 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 349. En algunas realizaciones, se provee un anticuerpo aislado que se une a Tau humana, donde el anticuerpo comprende
 5 una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 602 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 349.

En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo aislado que se une a Tau humana, donde el anticuerpo se une a un epítipo dentro de los
 10 aminoácidos 19 a 33, 19 a 42, 28 a 44, 37 a 51, 37 a 51, 100 a 114, 109 a 123, 118 a 132, 154 a 168, 172 a 177, 217 a 231, o 397 a 411 de Tau humana madura.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende:

- a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 112; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID
 15 NO: 113; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 114;
- b) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 132; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID
 20 NO: 133; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 134;
- c) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 142; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID
 NO: 143; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 144;
- d) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 25
 152; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID

- NO: 153; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 154;
- 5 e) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 162; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 163; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 164;
- 10 f) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 252; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 253; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 254;
- g) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 272; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 273; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 274;
- 15 h) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 102; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 103; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 104;
- 20 i) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 172; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 173; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 174;
- 25 j) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 192; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 193; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 194;

- k) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 242; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 243; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 244;
- 5 l) HVR–H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 82, 312, 322, y 332; HVR–H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 83, 313, 323, y 333; y HVR–H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 84, 314, 324, y 334;
- 10 m) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 92; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 93; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 94;
- n) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 122; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 123; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 124;
- 15 o) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 182; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 183; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 184;
- 20 p) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 202; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 203; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 204;
- 25 q) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 222; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID

NO: 223; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 224;

r) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 232; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 233; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 234; o

s) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 262; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 263; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 264.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende:

a) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 115; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 116; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 117;

b) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 135; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 136; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 137;

c) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 145; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 146; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 147;

d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 155; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 156; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 157;

- e) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 165; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 166; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 167;
- 5 f) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 255; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 256; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 257;
- 10 g) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 275; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 276; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 277;
- 15 h) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 105; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 106; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 107;
- 20 i) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 175; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 176; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 177;
- j) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 195; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 196; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 197;
- 25 k) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 245; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID

NO: 246; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 247;

5 l) HVR–L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 85, 315, 325, y 335; HVR–L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 86, 316, 326, y 336; y HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 87, 317, 327, y 337;

10 m) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 95; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 96; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 97;

15 n) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 125; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 126; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 127;

o) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 185; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 186; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 187;

20 p) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 205; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 206; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 207;

25 q) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 225; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 226; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 227;

- r) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 235; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 236; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 237; o
- 5 s) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 265; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 266; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 267.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende:

- 10 a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 112; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 113; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 114; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 115; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 116; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 117 ;
- 15 b) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 132; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 133; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 134; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 135; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 136; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 137;
- 20 c) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 142; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 143; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 144; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos
- 25

de SEC ID NO: 145; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 146; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 147;

5 d) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 152; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 153; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 154; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 155; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 156; y HVR–L3 que comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 157;

e) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 162; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 163; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 164; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 165; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 166; y HVR–L3 que comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 167;

f) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 252; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 253; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 254; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 255; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 256; y HVR–L3 que comprende la
20 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 257; o

25 g) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 272; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 273; y HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de

SEC ID NO: 274; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 275; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 276; HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 277;

5 h) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 102; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 103; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 104; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 105; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 106; y HVR–L3 que comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 107;

i) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 172; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 173; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 174; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 175; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 176; y HVR–L3 que comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 177;

j) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 192; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 193; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 194; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 195; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 196; y HVR–L3 que comprende la
20 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 197; o

25 k) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 242; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID

NO: 243; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 244; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 245; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 246; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 247;

l) HVR–H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 82, 312, 322, y 332; HVR–H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 83, 313, 323, y 333; HVR–H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 84, 314, 324, y 334; HVR–L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 85, 315, 325, y 335; HVR–L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 86, 316, 326, y 336; y HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 87, 317, 327, y 337;

m) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 92; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 93; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 94; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 95; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 96; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 97;

n) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 122; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 123; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 124; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 125; HVR–L2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEC ID NO: 126; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 127;

5 o) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 182; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 183; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 184; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 185; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 186; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 187;

10 p) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 202; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 203; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 204; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 205; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 206; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 207;

15 q) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 222; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 223; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 224; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 225; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 226; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 227;

20 r) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 232; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 233; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 234; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos

25

de SEC ID NO: 235; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 236; y HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 237; o

- 5 s) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 262; HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 263; HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 264; HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 265; HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 266; y HVR–L3 que comprende la
- 10 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 267.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende:

- a) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 110;
- 15 b) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 111;
- c) una VH como en (a) y una VL como en (b);
- d) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 130;
- e) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una
- 20 secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 131;
- f) una VH como en (d) y una VL como en (e);
- g) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 140;
- h) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una
- 25 secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 141;
- i) una VH como en (g) y una VL como en (h);

- j) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 150;
- k) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 151;
- 5 l) una VH como en (j) y una VL como en (k);
- m) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 160;
- n) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 161; o
- 10 o) una VH como en (m) y una VL como en (n);
- p) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 250;
- q) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 251;
- 15 r) una VH como en (p) y una VL como en (q);
- s) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 270;
- t) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 271;
- 20 u) una VH como en (s) y una VL como en (t);
- v) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 100;
- w) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 101; o
- 25 x) una VH como en (v) y una VL como en (w);
- y) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 170;

- z) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 171;
- aa) una VH como en (y) y una VL como en (z);
- bb) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 190;
- cc) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 191;
- dd) una VH como en (bb) y una VL como en (cc);
- ee) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 240;
- ff) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 241; o
- gg) una VH como en (ee) y una VL como en (ff);
- hh) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a una secuencia seleccionada entre SEC ID NOs: 80, 310, 320, 330, y 446 a 451;
- ii) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a una secuencia seleccionada entre SEC ID NOs: 81, 311, 321, 331, y 442 a 445;
- jj) una VH como en (hh) y una VL como en (ii);
- kk) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 90;
- ll) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 91;
- mm) una VH como en (kk) y una VL como en (ll);
- nn) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 120;

- oo) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una
secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 121;
- pp) una VH como en (nn) y una VL como en (oo);
- qq) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una
5 secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 180;
- rr) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una
secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 181;
- ss) una VH como en (qq) y una VL como en (rr);
- tt) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una
10 secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 200;
- uu) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una
secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 201;
- vv) una VH como en (tt) y una VL como en (uu);
- ww) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende
15 una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 220;
- xx) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende
una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO:
221;
- yy) una VH como en (ww) y una VL como en (xx);
- 20 zz) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una
secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 230;
- aaa) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una
secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 231;
- bbb) una VH como en (zz) y una VL como en (aaa);
- 25 ccc) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una
secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 260;

ddd) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia que es por lo menos 95% idéntica a SEC ID NO: 261; o

eee) una VH como en (ccc) y una VL como en (ddd).

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende:

- 5 a) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 110;
- b) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 111;
- c) una VH como en (a) y una VL como en (b);
- 10 d) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 130;
- e) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 131;
- f) una VH como en (d) y una VL como en (e);
- 15 g) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 140;
- h) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 141;
- i) una VH como en (g) y una VL como en (h);
- 20 j) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 150;
- k) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 151;
- l) una VH como en (j) y una VL como en (k);
- 25 m) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 160;

- n) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 161; o
- o) una VH como en (m) y una VL como en (n);
- p) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la
5 secuencia de SEC ID NO: 250;
- q) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 251;
- r) una VH como en (p) y una VL como en (q);
- s) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la
10 secuencia de SEC ID NO: 270;
- t) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 271; o
- u) una VH como en (s) y una VL como en (t)
- v) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la
15 secuencia de SEC ID NO: 100;
- w) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 101; o
- x) una VH como en (v) y una VL como en (w);
- y) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la
20 secuencia de SEC ID NO: 170;
- z) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 171;
- aa) una VH como en (y) y una VL como en (z);
- bb) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la
25 secuencia de SEC ID NO: 190;
- cc) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 191;

- dd) una VH como en (bb) y una VL como en (cc);
- ee) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la
secuencia de SEC ID NO: 240;
- ff) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia
de SEC ID NO: 241;
- gg) una VH como en (ee) y una VL como en (ff);
- hh) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una
secuencia seleccionada entre SEC ID NOs: 80, 310, 320, 330, y 446 a
451;
- ii) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia
seleccionada entre SEC ID NOs: 81, 311, 321, 331, y 442 a 445;
- jj) una VH como en (hh) y una VL como en (ii);
- kk) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la
secuencia de SEC ID NO: 90;
- ll) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia
de SEC ID NO: 91;
- mm) una VH como en (kk) y una VL como en (ll);
- nn) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la
secuencia de SEC ID NO: 120;
- oo) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia
de SEC ID NO: 121;
- pp) una VH como en (nn) y una VL como en (oo);
- qq) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la
secuencia de SEC ID NO: 180;
- rr) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia
de SEC ID NO: 181;
- ss) una VH como en (qq) y una VL como en (rr);

tt) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 200;

uu) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 201;

5 vv) una VH como en (tt) y una VL como en (uu);

ww) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 220;

xx) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 221;

10 yy) una VH como en (ww) y una VL como en (xx);

zz) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 230;

aaa) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 231;

15 bbb) una VH como en (zz) y una VL como en (aaa);

ccc) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 260;

ddd) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de SEC ID NO: 261; o

20 eee) una VH como en (ccc) y una VL como en (ddd).

En cualquiera de las realizaciones descritas en la presente, el anticuerpo puede ser un anticuerpo de IgG1 o un anticuerpo de IgG4. En cualquiera de las realizaciones descritas en la presente, el anticuerpo puede ser un anticuerpo contra IgG4. En algunas realizaciones de ese tipo, el anticuerpo comprende las mutaciones M252Y, S254T y T256E. En cualquiera de las reivindicaciones descritas en la presente invención, el anticuerpo puede comprender una mutación S228P. En cualquiera de las realizaciones descritas en la presente, el anticuerpo

25

puede comprender las mutaciones S228P, M252Y, S254T u T256E. En cualquiera de las realizaciones descritas en la presente, el anticuerpo puede ser un anticuerpo anti IgG4 que comprende las mutaciones S228P, M252Y, S254T u T256E. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo.

- 5 En cualquiera de las realizaciones, descritas en la presente, el anticuerpo puede ser un anticuerpo anti IgG4 que comprende las mutaciones S228P, M252Y, S254T y T256E, y que carece de la lisina C-terminal (des-k) de la región constante de cadena pesada. La lisina C-terminal de la región constante de cadena pesada puede ser eliminada, por ejemplo, durante la purificación del anticuerpo o por ingeniería genética recombinante del ácido nucleico que codifica el anticuerpo de tal modo que la lisina C-terminal no es codificada.
- 10

- En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo aislado que se une a Tau humana, donde el anticuerpo se une a cada una de Tau monomérica, Tau fosforilada, Tau no fosforilada, y Tau oligomérica con una K_D de menos de 100 nM, menos de 75 nM, o menos de 50 nM. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a Tau de mono cynomolgus (SEC ID NO: 4).
- 15

- En algunas realizaciones, se proporciona un ácido nucleico aislado, donde el ácido nucleico aislado codifica un anticuerpo descrito en la presente invención. En algunas realizaciones, se provee una célula huésped, donde la célula huésped comprende un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo descrito en la presente invención. En algunas realizaciones, se provee un método para producir un anticuerpo, que comprende cultivar la célula huésped bajo condiciones adecuadas para producir el anticuerpo.
- 20

- En algunas realizaciones, se provee un inmunoconjugado, donde el inmunoconjugado comprende un anticuerpo aislado descrito en la presente invención y un agente terapéutico. En algunas realizaciones, se provee un
- 25

anticuerpo etiquetado, que comprende un anticuerpo descrito en la presente invención y una etiqueta detectable.

En algunas realizaciones, se provee una composición farmacéutica, que comprende un anticuerpo aislado descrito en la presente invención y un portador
5 farmacéuticamente aceptable.

En algunas realizaciones, se provee un método para tratar una enfermedad asociada a la proteína Tau, que comprende la administración a un individuo con una enfermedad relacionada con la proteína Tau de un anticuerpo descrito en la presente invención o una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo
10 descrito en la presente invención. En algunas realizaciones, la enfermedad asociada a la proteína Tau es una tauopatía. En algunas realizaciones, la tauopatía es una tauopatía neurodegenerativa. En algunas realizaciones, la tauopatía se selecciona entre la Enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral
15 amiotrófica, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Creutzfeldt–Jacob, Demencia pugilística, Síndrome de Down, Enfermedad de Gerstmann–Sträussler–Scheinker, miositis por cuerpos de inclusión, angiopatía amiloide cerebral por proteínas priónicas, lesión cerebral traumática, esclerosis lateral
20 amiotrófica/complejo parkinsonismo–demencia de Guam, Enfermedad de las neuronas motoras no de Guam con ovillos neurofibrilares, demencia con granos argirofílicos, degeneración corticobasal, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, demencia frontotemporal, demencia frontotemporal con
25 parkinsonismo vinculada con el cromosoma 17, enfermedad de Hallevorden–Spatz, atrofia sistémica múltiple, Enfermedad de Niemann–Pick tipo C, Degeneración Palido–ponto–nigral, Enfermedad de Pick, gliosis subcortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva, Panencefalitis esclerosante
subaguda, demencia con ovillos solamente, Parkinsonismo Posencefalítico, y

Distrofia miotónica. En algunas realizaciones, la tauopatía es enfermedad de Alzheimer o parálisis supranuclear progresiva.

En algunas realizaciones, se provee un método para retener o aumentar la capacidad de memoria cognitiva o desaceleración de la pérdida de memoria en un individuo, que comprende la administración de un anticuerpo descrito en la presente invención o una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo descrito en la presente invención.

En algunas realizaciones, se provee un método para reducir el nivel de proteína Tau, proteína Tau no fosforilada, proteína Tau fosforilada, o proteína Tau hiperfosforilada en un individuo, que comprende la administración de un anticuerpo descrito en la presente invención o de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo descrito en la presente invención.

En algunas realizaciones, se provee un anticuerpo aislado descrito en la presente invención para utilizar como un medicamento. En algunas realizaciones, se provee un anticuerpo aislado descrito en la presente invención para utilizar en el tratamiento de una tauopatía en un individuo. En algunas realizaciones, la tauopatía es una tauopatía neurodegenerativa. En algunas realizaciones, la tauopatía se selecciona entre la enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Creutzfeldt–Jacob, Demencia pugilística, Síndrome de Down, Enfermedad de Gerstmann–Sträussler–Scheinker, miositis por cuerpos de inclusión, angiopatía amiloide cerebral por proteínas priónicas, lesión cerebral traumática, esclerosis lateral amiotrófica/complejo parkinsonismo–demencia de Guam, enfermedad de las neuronas motoras no de Guam con ovillos neurofibrilares, demencia con granos argirofílicos, degeneración corticobasal, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, demencia frontotemporal, demencia frontotemporal con parkinsonismo vinculada con el cromosoma 17, enfermedad de Hallevorden–

Spatz, atrofia sistémica múltiple, enfermedad de Niemann–Pick tipo C, Degeneración Palido–ponto–nigral, enfermedad de Pick, gliosis subcortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva, Panencefalitis esclerosante subaguda, Demencia con ovillos solamente, Parkinsonismo Posencefalítico, y

5 Distrofia miotónica. En algunas realizaciones, la tauopatía es la enfermedad de Alzheimer o parálisis supranuclear progresiva.

En algunas realizaciones, se provee un anticuerpo aislado descrito en la presente invención para utilizar en la retención o aumento de la capacidad de la memoria cognitiva o desaceleración de la pérdida de memoria en un individuo.

10 En algunas realizaciones, se provee un anticuerpo aislado descrito en la presente invención para utilizar en la reducción del nivel de proteína Tau, proteína Tau fosforilada, proteína Tau no fosforilada, o proteína Tau hiperfosforilada en un individuo.

En algunas realizaciones, se provee el uso de un anticuerpo descrito en la presente invención para la manufactura de un medicamento para tratar una

15 enfermedad asociada con la proteína Tau en un individuo. En algunas realizaciones, la enfermedad asociada con la proteína Tau es una tauopatía. En algunas realizaciones, la tauopatía es una tauopatía neurodegenerativa. En algunas realizaciones, la tauopatía se selecciona entre la enfermedad de

20 Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Parkinson, Enfermedad de Creutzfeldt–Jacob, Demencia pugilística, Síndrome de Down, Enfermedad de Gerstmann–Sträussler–Scheinker, miositis por cuerpos de inclusión, angiopatía amiloide cerebral por proteínas priónicas, lesión cerebral traumática, esclerosis lateral amiotrófica/complejo parkinsonismo–demencia de Guam, Enfermedad de

25 las neuronas motoras no de Guam con ovillos neurofibrilares, demencia con granos argirofílicos, degeneración corticobasal, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, demencia frontotemporal, demencia frontotemporal con

parkinsonismo vinculada con el cromosoma 17, Enfermedad de Hallevorden–Spatz, atrofia sistémica múltiple, Enfermedad de Niemann–Pick tipo C, Degeneración Palido–ponto–nigral, Enfermedad de Pick, gliosis subcortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva, Panencefalitis esclerosante subaguda, Demencia con ovillos solamente, Parkinsonismo Posencefalítico y Distrofia miotónica. En algunas realizaciones, la tauopatía es la enfermedad de Alzheimer o parálisis supranuclear progresiva.

En algunas realizaciones, se provee el uso de un anticuerpo descrito en la presente invención para la manufactura de un medicamento para la retención o aumento de la capacidad de la memoria cognitiva o desaceleración de la pérdida de memoria en un individuo.

En algunas realizaciones, se provee un método para detectar ovillos neurofibrilares, hilos del neurópilo, o neuritis distrófica, que comprende poner en contacto una muestra con un anticuerpo descrito en la presente invención. En algunas realizaciones, la muestra es una muestra cerebral, una muestra de fluido cerebroespinal o una muestra de sangre.

En cualquiera de las realizaciones descritas en la presente invención, un método o uso puede comprender administrar un anticuerpo descrito en la presente invención en combinación con por lo menos una terapia adicional. Los ejemplos no limitativos de terapias adicionales incluyen a los fármacos neurológicos, corticosteroides, antibióticos, agentes antivirales, y otros agentes terapéuticos. Dichos otros agentes terapéuticos incluyen, meramente a título enunciativo, otros anticuerpos anti-Tau, anticuerpos contra beta amiloide, anticuerpos contra beta-secretasa 1 (“BACE1”), e inhibidores de beta-secretasa 1.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1 A-F. Unión de anticuerpos a Tau hiperfosforilada (pTau) se comparó con Tau no fosforilada utilizando un ensayo ELISA. Los resultados son expresados en densidades ópticas (D.O.).

5 Figura 2 A-E. Se evaluó la unión de anticuerpos a Tau oligomérica utilizando un ELISA de captura de oligo- y monoTau. Los resultados son expresados en densidades ópticas (D.O.).

Figura 3. Los tres anticuerpos panTau ensayados muestran unión a Tau soluble en lisados cerebrales de la enfermedad de Alzheimer (EA) y coinciden con
10 los donantes control empleando un ensayo Western blot (WB). Los extractos proteicos de EA y los lisados cerebrales controles, y seis isoformas de Tau humana recombinante, se corrieron en SDS-PAGE y se sometieron a blot las membranas con tres anticuerpos panTau (37D3-H9, 94B2-C1 y 125B11-H3). Se rotulan las sendas con muestras de EA como AD18, AD24 y AD27, y las sondas
15 con muestras control se rotulan como C25 y C21. Las sendas corren con seis isoformas de Tau humana recombinante y se rotulan como escalera de hTau.

Figura 4 A-C. Los anticuerpos PanTau muestran unión a Tau soluble en lisados cerebrales de EA y coinciden con donantes control usando un ELISA de captura de Tau. Se muestran los datos para tres anticuerpos panTau, 37D3-H9,
20 94B2-C1 y 125B11-H3. Los resultados son expresados en densidades ópticas (D.O.), con valores medios $\pm$ SD, N=2.

Figura 5. Sensogramas que muestran la unión 37D3-H9 como un Fab (panel izquierdo) y como una IgG (panel derecho) a monómero de Tau humana acoplado covalentemente a una superficie de chip Biacore. Se ha aplicado un
25 modelo de unión 1:1 y se muestra como una superposición. El eje x indica tiempo (unidades=segundos). El eje y indica Unidades de Resonancia (UR).

Figura 6. Sensogramas superpuestos que muestran la unión de muestras de hu37D3–H9.v5 t=0 (panel izquierdo) y t=2 semanas (panel derecho) a monómero de Tau humana a 3.1, 6.3, 12.5, 25, 25, 50 y 100 nM. Se ha aplicado un modelo de unión 1:1 y es también mostrado en esta figura. El eje x indica tiempo (unidades=segundos). El eje y indica Unidades de resonancia (UR).

Figura 7. Unión de hu37D3–H9.v5 y hu37D3–H9.v5 N28D a Tau monomérica en forma individual (panel izquierdo muestra hu37D3–H9.v5 y el panel del medio muestra hu37D3–H9.v5 N28D) y mixto a una relación 1:1 (panel derecho). El eje x indica tiempo (unidades=segundos). El eje y indicaba Unidades de resonancia (UR).

Figura 8 A-D. Afinidad, índice de estabilidad y secuencias de las noventa variantes 37D3-H9 seleccionadas para potencial estabilidad mejorada. Por cuestiones de claridad, los valores obtenidos con una corrida de anticuerpo control no estresado (hu37D3–H9.v5 hIgG1) al comienzo, a la mitad y al final de cada experimento se muestran en ambas secciones de la tabla.

Figura 9. Modelo estructural de la región Fv 37D3-H9 que muestra las posiciones de los residuos 28 a 33 (motivo NGNTYF) de la cadena ligera y las posiciones relativas de los residuos 28 y 33. Nótese que el residuo 33, mutado en hu37D3.v28.A4 a Leu, no está cerca del residuo Asn–28 inestable. La línea discontinua muestra un enlace de hidrógenos entre los residuos Asn–28 y Tyr–32. Figura generada utilizando el paquete informático MOE (Chemical Computing Group).

La Figura 10 muestra la farmacocinética del anticuerpo anti–Tau 37D3-H9 en ratones luego de una única inyección intravenosa o intraperitoneal de 10 mg/kg.

La Figura 11 muestra la farmacocinética de hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P y hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE en monos cynomolgus después de una única inyección de bolo IV a una dosis de 1 mg/kg.

Figura 12A-C. Unión de ciertos anticuerpos anti-Tau a fragmentos de Tau.

- 5 (A) Se muestra la unión de ciertos anticuerpos anti-Tau a fragmentos de Tau 1-15, 10-24, 19-33, 28-42, 37-51, y 46-60. (B) Unión del anticuerpo 37D3-H9 mIgG2a a fragmentos de Tau 10-44, 10-24, 2-24, 2-34, y Tau de longitud completa. (C) Unión de anticuerpo hu37D3-H9.v5 hIgG1 a fragmentos de Tau 10-44, 10-24, 2-24, 2-34, y Tau de longitud completa.

- 10 Figura 13 A-B. Efecto de función efectora sobre la toxicidad de Tau en cocultivos de neurona- microglía. (A) Porcentaje de fragmentación de MAP2 en co-cultivos contactados con diversos anticuerpos y Tau oligomérica. (B) Imágenes de neuronas (paneles superiores) y cocultivos de microglía- neuronas (paneles inferiores) contactados con diversos anticuerpos y Tau oligomérica.

- 15 Figura 14. Niveles de pTau212/214 en el hipocampo de ratones a los cuales se les administra anti-tau 37D3-H9 WT IgG2a o anti-tau 37D3-H9 DANG IgG2.

Figura 15. Comparación de secuencias de Tau humana y de mono cynomolgus. Se indica el epítipo para el anticuerpo 37D3-H9.

- 20 Figura 16 muestra la farmacocinética del anticuerpo anti-Tau 94B2-C1 en ratones después de una única inyección intravenosa o intraperitoneal de 10 mg/kg.

- Figura 17 muestra la farmacocinética del anticuerpo anti-Tau 125B11-H3 en ratones después de una única inyección intravenosa o intraperitoneal de 10
25 mg/kg.

La Figura 18 muestra un alineamiento de las regiones variables de cadena ligera kappa 1 de hu37D3-H9.v1, hu37D3-H9.v39, hu37D3-H9.v40, y hu37D3-H9.v41.

La Figura 19A-B muestra la concentración en plasma del anticuerpo (A) y la concentración de anticuerpo en CSF (B) en monos cynomolgus luego de una única inyección IV del anticuerpo indicado a 50 mg/kg.

La Figura 20 muestra la concentración de Tau total en plasma y la concentración de anticuerpo en plasma en monos cynomolgus luego de una única inyección IV del anticuerpo indicado a 50 mg/kg.

Las Figuras 21A-D muestran la concentración de anticuerpo en diversas regiones de cerebro de mono cynomolgus 2 días y 10 días después de una inyección IV única de hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P (A) y hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE (B) a 50 mg/kg; concentración promedio de anticuerpo en el cerebro (C); % de concentración de anticuerpo en cerebro:plasma (D).

Las Figuras 22A-B muestran la concentración de anticuerpo en cerebro de monos cynomolgus en diversos puntos de tiempo luego de una única inyección IV del anticuerpo indicado a 50 mg/kg, graficado a escala logarítmica (A) y lineal (B).

Las Figuras 23A-E muestran la concentración de anticuerpo en el hipocampo (A), cerebelo (B), corteza frontal (C), CSF (D), y plasma (E) de monos cynomolgus en diversos puntos temporales luego de una única inyección IV del anticuerpo indicado a 50 mg/kg.

Las Figuras 24A-B muestran la concentración de Tau total promedio (A) e individual (B) en plasma con el transcurso del tiempo en monos cynomolgus luego de una única inyección IV del anticuerpo indicado a 50 mg/kg.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES DE LA INVENCION

1. DEFINICIONES

Una “estructura humana aceptora” para los propósitos de la presente
5 invención es una estructura que comprende la secuencia de aminoácidos de una estructura de dominio variable de cadena ligera (VL) o una estructura de dominio variable de cadena pesada (VH) derivada de una estructura de inmunoglobulina humana o de una estructura consenso humana, según lo definido más adelante. Una estructura humana aceptora “derivada de” una estructura de inmunoglobulina
10 humana o una estructura consenso humana puede comprender la misma secuencia de aminoácidos, o puede contener cambios en la secuencia de aminoácidos. En algunas realizaciones, la cantidad de cambios en los aminoácidos son 10 o menos, 9 o menos, 8 o menos, 7 o menos, 6 o menos, 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos, o 2 o menos. En algunas realizaciones, la
15 estructura humana aceptora de VL es idéntica en secuencia a la secuencia de estructura de inmunoglobulina humana de VL o secuencia de estructura consenso humana.

“Afinidad” se refiere a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre un único sitio de unión de una molécula (*por ej.*, un anticuerpo) y
20 su socio de unión (*por ej.*, un antígeno). A menos que se indique lo contrario, en el presente contexto, “afinidad de unión” se refiere a la afinidad de unión intrínseca la cual refleja una interacción 1:1 entre los miembros de un par de unión (*por ej.*, anticuerpo y antígeno). La afinidad de una molécula X para su socio Y puede ser generalmente representada por la constante de disociación (KD). Se
25 puede medir la afinidad mediante métodos comunes conocidos en la técnica, incluyendo aquellos descritos en la presente invención. En lo que sigue se

describen realizaciones ilustrativas y ejemplares específicas para medir la afinidad de unión.

Un anticuerpo “madurado por afinidad” se refiere a un anticuerpo con una o más alteraciones en una o más regiones hipervariables (HVRs, por sus siglas en inglés), en comparación con un anticuerpo parental el cual no posee dichas alteraciones, dando como resultado dichas alteraciones una mejora en la afinidad del anticuerpo para el antígeno.

Los términos “anticuerpo anti-Tau” y “un anticuerpo que se une a Tau” se refieren a un anticuerpo que es capaz de unirse a Tau con suficiente afinidad de modo tal que el anticuerpo es útil como un agente de diagnóstico y/o terapéutico en el direccionamiento hacia Tau. En algunas realizaciones, el grado de unión a un anticuerpo anti-Tau con una proteína no Tau no relacionada es inferior a aproximadamente 10% de la unión del anticuerpo a Tau según lo medido, *por ej.*, por un radioinmunoensayo (RIA, por sus siglas en inglés). En ciertas realizaciones, un anticuerpo que se une a Tau tiene una constante de disociación (KD) de $\leq 1\mu\text{M}$, $\leq 100\text{ nM}$, $\leq 10\text{ nM}$, $\leq 1\text{ nM}$, $\leq 0.1\text{ nM}$, $\leq 0.01\text{ nM}$, o $\leq 0.001\text{ nM}$ (*por ej.* 10^{-8} M o menos, *por ej.* de 10^{-8} M a 10^{-13} M , *por ej.*, de 10^{-9} M a 10^{-13} M). En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau se une a un epítipo de Tau que es conservado entre Tau de diferentes especies. El término “anticuerpo anti-Tau” y “anticuerpo que se une a Tau,” en el presente contexto, se refiere a un anticuerpo que se une a Tau monomérica, Tau oligomérica, y/o Tau fosforilada, a menos que se indique específicamente lo contrario. En algunas de esas realizaciones, el anticuerpo anti-Tau se une a Tau monomérica, Tau oligomérica, Tau no fosforilada, y Tau fosforilada con afinidades comparables, tal como con afinidades que difieren en no más de 50 veces entre sí. En algunas realizaciones, un anticuerpo que se une a Tau monomérica, Tau oligomérica, Tau no fosforilada, y Tau fosforilada es denominado un “anticuerpo pan-Tau”.

El término “anticuerpo” en la presente invención se utiliza en el sentido más amplio y abarca diversas estructuras de anticuerpos, incluyendo aunque sin limitarse a anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (*por ej.*, anticuerpos biespecíficos), y fragmentos de anticuerpos
5 siempre y cuando los mismos exhiban la actividad deseada de unión al antígeno.

Un “fragmento de anticuerpo” se refiere a una molécula que no es un anticuerpo intacto que comprende una porción de un anticuerpo intacto que se une al antígeno al cual se une el anticuerpo intacto.

Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen, entre otros, Fv, Fab,
10 Fab', Fab'–SH, F(ab')₂; diacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpos de una sola cadena (*por ej.* scFv); y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos.

Un “anticuerpo que se une al mismo epítopo” que un anticuerpo de referencia se refiere a un anticuerpo que bloquea la unión del anticuerpo de
15 referencia a su antígeno en un ensayo de competición en un 50% o más, y a la inversa, el anticuerpo de referencia bloquea la unión del anticuerpo a su antígeno en un ensayo de competición en un 50% o más. Se proporciona en la presente un ensayo de competición ejemplar.

El término anticuerpo “quimérico” se refiere a un anticuerpo en el cual una
20 porción de la cadena pesada y/o ligera es derivada de una fuente o especie en particular, mientras que el resto de la cadena pesada y/o ligera es derivado de una fuente o especie diferente.

La “clase” de un anticuerpo se refiere al tipo de dominio constante o región constante que posee su cadena pesada. Existen cinco clases principales de
25 anticuerpos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y diversas de estas pueden ser adicionalmente divididas en subclases (isotipos), *por ej.*, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las

diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan α , δ , ϵ , γ , y μ , respectivamente.

El término “agente citotóxico” en el presente contexto se refiere a una sustancia que inhibe o evita una función celular y/o provoca la muerte o
5 destrucción celular.

Los agentes citotóxicos incluyen, meramente a título enunciativo, isótopos radiactivos (*por ej.*, At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} y a los isótopos radiactivos de Lu); agentes o fármacos quimioterapéuticos (*por ej.*, metotrexato, adriamicina, vinca alcaloides (vincristina, vinblastina, etopósido),
10 doxorubicina, melfalán, mitomicina C, clorambucilo, daunorubicina u otros agentes intercalantes); agentes inhibidores del crecimiento; enzimas y fragmentos de los mismos tales como las enzimas nucleolíticas; antibióticos; toxinas tales como toxinas de molécula pequeña o toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fungal, vegetal o animal, incluyendo los fragmentos y/o variantes de
15 las mismas; y los diversos agentes antitumorales o anticancerígenos descritos más adelante.

Las “funciones efectoras” se refieren a aquellas actividades biológicas atribuibles a la región Fc de un anticuerpo, las cuales varían con el isotipo del anticuerpo. Los ejemplos de funciones efectoras de anticuerpo incluyen: unión de
20 C1q y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC, por sus siglas en inglés); unión a receptores de Fc; citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC, por sus siglas en inglés); fagocitosis; regulación descendiente de receptores de superficie celular (*por ej.* receptor de células B); y activación de células B.

25 Una “cantidad eficaz” de un agente, *por ej.*, una formulación farmacéutica, se refiere a una cantidad eficaz, en dosificaciones y durante períodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico o profiláctico deseado.

El término “región Fc” en la presente invención se emplea para definir una región de terminal C de una cadena pesada de inmunoglobulina que contiene por lo menos una porción de la región constante. El término incluye regiones Fc de secuencia nativa y regiones Fc variantes. En algunas realizaciones, una región Fc de cadena pesada de la IgG humana se extiende desde Cys226, o desde Pro230, hasta el término carboxilo de la cadena pesada. Sin embargo, la lisina de terminal C (Lys447) de la región Fc puede estar presente o no. A menos que se especifique lo contrario en la presente invención, la numeración de los residuos de aminoácidos en la región Fc o región constante es acorde al sistema de numeración EU, también llamado índice EU, según lo descrito por Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ta Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

“Estructura” o “FR” se refiere a residuos de dominio variable que no son los residuos de la región hipervariable (HVR). La FR de un dominio variable en general consiste en cuatro dominios de FR: FR1, FR2, FR3, y FR4. Por consiguiente, las secuencias de HVR y FR en general aparecen en la siguiente secuencia en VH (o VL): FR1–H1(L1)–FR2–H2(L2)–FR3–H3(L3)–FR4.

Los términos “anticuerpo de longitud completa,” “anticuerpo intacto,” y “anticuerpo entero” se emplean indistintamente en la presente invención para hacer referencia a un anticuerpo que tiene una estructura sustancialmente similar a una estructura de un anticuerpo nativo o que tiene cadenas pesadas que contienen una región Fc según lo definido en esta invención.

Los términos “célula huésped”, “línea de célula huésped” y “cultivo de célula huésped” se utilizan indistintamente y se refieren a células en las cuales se ha introducido ácido nucleico exógeno, incluyendo la progenie de dichas células. Las células huéspedes incluyen “transformantes” y “células transformadas” las cuales incluyen la célula transformada primaria y la progenie derivada de la

misma sin tener en cuenta la cantidad de pasajes. La progenie puede no ser completamente idéntica en el contenido de ácido nucleico a una célula parental, aunque puede contener mutaciones. La progenie mutante que tiene la misma función o actividad biológica que la seleccionada en la célula originalmente transformada queda incluida en la presente invención.

Un “anticuerpo humano” es aquel que posee una secuencia de aminoácidos la cual corresponde a la de un anticuerpo producido por un humano o una célula humana o derivado de una fuente no humana que utiliza repertorios de anticuerpos humanos u otras secuencias que codifican anticuerpos humanos. Esta definición de un anticuerpo humano excluye específicamente a un anticuerpo humanizado que comprende residuos de unión al antígeno no humanos.

El término “región variable” o “dominio variable” se refiere al dominio de una cadena pesada o ligera de anticuerpo que está involucrada en la unión del anticuerpo al antígeno. Los dominios variables de la cadena pesada y de la cadena ligera (VH y VL, respectivamente) de un anticuerpo nativo en general tienen estructuras similares, comprendiendo cada dominio cuantros regiones estructurales conservadas (FRs) y tres regiones hipervariables (HVRs). (Ver, por ejemplo, Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6^{ta} ed., W.H. Freeman y Co., página 91 (2007).) Un único dominio VH o VL puede ser suficiente para conferir especificidad de unión al antígeno. Adicionalmente, pueden aislarse anticuerpos que se unen a un antígeno en particular empleando un dominio VH o VL de un anticuerpo que se une al antígeno para seleccionar una genoteca de dominios VL o VH complementarios, respectivamente. Ver, por ej., Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991).

Una “estructura consenso humana” es una estructura la cual representa a los residuos de aminoácidos de presentación más común en una selección de secuencias de estructura VL o VH de inmunoglobulina humana. En general, la selección de secuencias de VL o VH de inmunoglobulina humana es de un

subgrupo de secuencias de dominio variable. En general, el subgrupo de secuencias es un subgrupo como en Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Quinta Edición, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3. En algunas realizaciones, para la VL, el subgrupo es el subgrupo kappa I como en Kabat et al., *supra*. En algunas realizaciones, para la VH, el subgrupo es el subgrupo III como en Kabat et al., *supra*.

Un anticuerpo “humanizado” se refiere a un anticuerpo quimérico que comprende los residuos de aminoácidos de HVRs no humanas y residuos de aminoácidos de FRs humanas. En ciertas realizaciones, un anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente la totalidad de por lo menos uno, y en general dos, dominios variables, en donde todas o sustancialmente todas las HVRs (*por ej.*, CDRs) corresponden a aquellas de un anticuerpo no humano, y todas o sustancialmente todas las FRs corresponden a aquellas de un anticuerpo humano. Un anticuerpo humanizado opcionalmente puede comprender por lo menos una porción de una región constante de anticuerpo derivada de un anticuerpo humano. Una “forma humanizada” de un anticuerpo, *por ej.*, un anticuerpo no humano, se refiere a un anticuerpo que ha sido objeto de humanización.

El término “región hipervariable” o “HVR” en el presente contexto se refiere a cada una de las regiones de un dominio variable de anticuerpo las cuales son hipervariables en secuencia (“regiones determinantes de complementariedad” o “CDRs”) y/o forman lazos estructuralmente definidos (“lazos hipervariables”) y/o contienen los residuos que contactan al antígeno (“contactos de antígeno”). En general, los anticuerpos comprenden seis HVRs: tres en la VH (H1, H2, H3), y tres en la VL (L1, L2, L3). Los ejemplos de HVRs en la presente incluyen:

- (a) lazos hipervariables que se producen en los residuos de aminoácidos 26–32 (L1), 50–52 (L2), 91–96 (L3), 26–32 (H1), 53–55 (H2), y 96–101 (H3) (Chothia y Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901–917 (1987));
- (b) CDRs que se presentan en los residuos de aminoácidos 24–34 (L1), 50–56 (L2), 89–97 (L3), 31–35b (H1), 50–65 (H2), y 95–102 (H3) (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ta Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991));
- (c) contactos antígenos que se presentan en los residuos de aminoácidos 27c–36 (L1), 46–55 (L2), 89–96 (L3), 30–35b (H1), 47–58 (H2), y 93–101 (H3) (MacCallum et al. *J. Mol. Biol.* 262: 732–745 (1996)); y
- (d) combinaciones de (a), (b), y/o (c), incluyendo residuos de aminoácidos de HVR 46–56 (L2), 47–56 (L2), 48–56 (L2), 49–56 (L2), 26–35 (H1), 26–35b (H1), 49–65 (H2), 93–102 (H3), y 94–102 (H3).

A menos que se indique lo contrario, los residuos de HVR y otros residuos en el dominio variable (*por ej.*, los residuos FR) están numerados en la presente invención de acuerdo con Kabat et al., *supra*.

Un “inmunoconjugado” es un anticuerpo conjugado a una o más moléculas heterólogas, incluyendo entre otros a un agente citotóxico.

Un “individuo” o “sujeto” es un mamífero. Los mamíferos incluyen, meramente a título enunciativo, animales domésticos (*por ej.*, vacas, ovejas, gatos, perros y caballos), primates (*por ej.*, humanos y primates no humanos tales como monos), conejos, y roedores (*por ej.*, ratones y ratas). En ciertas realizaciones, el individuo o sujeto es un humano.

Un anticuerpo “aislado” es aquel que ha sido separado de un componente de su medioambiente natural. En algunas realizaciones, un anticuerpo es purificado hasta más del 95% o 99% de pureza según lo determinado por, a modo de ejemplo, enfoque electroforético (*por ej.*, SDS–PAGE, enfoque isoeléctrico

(IEF, por sus siglas en inglés), electroforesis capilar) o cromatográfico (*por ej.*, HPLC de intercambio iónico o de fase inversa). Para una revisión de los métodos para la evaluación de la pureza de los anticuerpos, véase, *por ej.*, Flatman et al., *J. Chromatogr. B* 848:79–87 (2007).

5 Un ácido nucleico “aislado” se refiere a una molécula de ácido nucleico que ha sido separada de un componente de su medioambiente natural. Un ácido nucleico aislado incluye una molécula de ácido nucleico contenida en células que comúnmente contienen la molécula de ácido nucleico, aunque la molécula de ácido nucleico está presente extracromosómicamente o en una ubicación cromosómica que es diferente de su ubicación cromosómica natural.

10 “Acido nucleico aislado que codifica un anticuerpo anti-Tau” se refiere a una o más moléculas de ácido nucleico que codifican cadenas pesada y ligera de anticuerpos (o sus fragmentos), incluyendo tales molécula(s) de ácido nucleico en un único vector o vectores separados, y dicha o dichas moléculas de ácido nucleico presentes en una o más ubicaciones en una célula huésped.

15 El término “anticuerpo monoclonal” en el presente contexto se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos y/o se unen al mismo epítipo, excepto por posibles anticuerpos variantes, *por ej.*, que contienen mutaciones de presentación natural o que surgen durante la producción de una preparación de anticuerpos monoclonales, dichas variantes en general están presentes en cantidades menores. En contraste con las preparaciones de los anticuerpos policlonales, las cuales típicamente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítopos), cada anticuerpo monoclonal de una preparación de anticuerpos monoclonales se dirige

20 contra un único determinante en un antígeno. Por lo tanto, el modificador “monoclonal” indica el carácter del anticuerpo como siendo obtenido de una

población sustancialmente homogénea de anticuerpos, y no debe interpretarse como que requiere la producción del anticuerpo mediante cualquier método en particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que serán empleados de conformidad con la presente invención pueden ser preparados mediante una
5 variedad de técnicas, incluyendo meramente a título enunciativo el método del hibridoma, métodos de ADN recombinante, métodos de exhibición en fago, y métodos que utilizan animales transgénicos que contienen la totalidad o parte de los lugares de inmunoglobulina humana, dichos métodos y otros métodos ejemplares para preparar anticuerpos monoclonales se describen en esta
10 invención.

Un “anticuerpo desnudo” se refiere a un anticuerpo que no está conjugado a un resto heterólogo (*por ej.*, un resto citotóxico) o radioetiqueta. El anticuerpo desnudo puede estar presente en una formulación farmacéutica.

“Anticuerpos nativos” se refieren a moléculas de inmunoglobulina de
15 presentación natural con estructuras variables. Por ejemplo, los anticuerpos anti IgG nativos son glicoproteínas heterotetraméricas de aproximadamente 150.000 daltons, compuestos por dos cadenas ligeras idénticas y dos cadenas pesadas idénticas que están unidas a disulfuro. Desde el término N hasta el término C, cada cadena pesada tiene una región variable (VH), también denominada un
20 dominio pesado variable o un dominio variable de cadena pesada, seguido por tres dominios constantes (CH1, CH2, y CH3). Similarmente, desde el término N hasta el término C, cada cadena ligera tiene una región variable (VL), también llamado un dominio ligero variable o un dominio variable de cadena ligera, seguido por un dominio ligero constante (CL). La cadena ligera de un anticuerpo
25 puede estar asignada a uno de dos tipos, llamados kappa (κ) y lambda (λ), sobre la base de la secuencia de aminoácidos de su dominio constante.

El término “prospecto” se emplea para hacer referencia a las instrucciones habitualmente incluidas en los envases comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, el uso, la dosificación, la administración, la terapia combinada, contraindicaciones y/o advertencias con respecto al uso de dichos productos terapéuticos.

“Porcentaje (%) de identidad de secuencias de aminoácidos” con respecto a una secuencia polipeptídica de referencia es definido como el porcentaje de residuos de aminoácidos en una secuencia candidata que son idénticos a los residuos de aminoácidos en la secuencia polipeptídica de referencia, después del alineamiento de las secuencias y de la introducción de gaps (huecos), en caso necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencias, y sin considerar ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencias. El alineamiento para los propósitos de determinar el porcentaje de identidad de secuencias de aminoácidos se puede lograr de diversas maneras que están dentro del conocimiento de la técnica, por ejemplo, empleando un programa informático públicamente disponible tal como el programa informático BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Los expertos en la técnica pueden determinar los parámetros apropiados para el alineamiento de secuencias, incluyendo cualquier algoritmo necesario para lograr el alineamiento máximo sobre toda la longitud de las secuencias que se están comparando. Para los propósitos de esta invención, sin embargo, el % de valores de identidad de secuencias de aminoácidos se genera empleando el programa informático de comparación de secuencias ALIGN-2. El programa informático para la comparación de secuencias ALIGN-2 fue creado por Genentech, Inc., y el código fuente ha sido presentado con la documentación del usuario en la Oficina del Derecho de Autor de los Estados Unidos (U.S. Copyright Office), Washington D.C., 20559, donde fue registrado bajo el Número de Registro de Derecho de

Autor de los Estados Unidos TXU510087. El programa ALIGN-2 está disponible para el público de Genentech, Inc., Sur de San Francisco, California, o puede ser compilado del código fuente. El programa ALIGN-2 debería ser compilado para utilizar en un sistema operativo UNIX, incluyendo UNIX V4.0D digital. Todos los
 5 parámetros para la comparación de secuencias son fijados por el programa ALIGN-2 y no varían.

En situaciones en las cuales se emplea ALIGN-2 para comparaciones de secuencias de aminoácidos, el % de identidad de secuencias de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos determinada A con una secuencia de aminoácidos
 10 determinada B (lo cual puede describirse alternativamente como una secuencia aminoacídica determinada A que tiene o comprende un cierto % de identidad de secuencia aminoacídica con una secuencia aminoacídica determinada B) se calcula de la siguiente manera:

15
$$100 \text{ veces la fracción } X/Y$$

donde X es la cantidad de residuos de aminoácidos puntuados como coincidencias idénticas por el programa de alineamiento de secuencias ALIGN-2 en ese alineamiento del programa de A y B, y donde Y es la cantidad total de
 20 residuos de aminoácidos en B. Se apreciará que donde la longitud de secuencia de aminoácidos A no es igual a la longitud de secuencia de aminoácidos B, el % de identidad de secuencias de aminoácidos de A a B no será igual al % de identidad de secuencias de aminoácidos de B a A. A menos que se indique específicamente lo contrario, todos los valores de % de identidad de secuencias
 25 de aminoácidos empleados en la presente invención son obtenidos según lo descrito en el párrafo inmediatamente precedente empleando el programa informático ALIGN-2.

El término "formulación farmacéutica" se refiere a una preparación la cual está en una forma tal que permita que la actividad biológica de un ingrediente

activo contenido en la misma sea eficaz, y que no contiene componentes adicionales que sean inaceptablemente tóxicos para un sujeto al cual se le administraría la formulación.

Un “portador farmacéuticamente aceptable” se refiere a un ingrediente en una formulación farmacéutica, que no es un ingrediente activo, el cual no es tóxico para un sujeto. Un portador farmacéuticamente aceptable incluye, entre otros, un buffer, excipiente, estabilizante, o conservante.

El término “Tau”, en el presente contexto, se refiere a cualquier proteína Tau nativa de cualquier fuente de vertebrado, incluyendo mamíferos tales como primates (*por ej.*, humanos) y roedores (*por ej.*, ratones y ratas), a menos que se indique lo contrario. El término abarca Tau de “longitud completa”, sin procesar así como también cualquier forma de Tau que es el resultado del procesamiento en la técnica. El término también abarca a las variantes de presentación natural de Tau, *por ej.*, variantes de corte y empalme o variantes alélicas.

El término “pTau,” en el presente contexto, se refiere a Tau en donde un residuo de serina, treonina o tirosina es fosforilado mediante una proteína quinasa mediante la adición de un grupo fosfato unido covalentemente. En algunas realizaciones, pTau es fosforilada en un residuo de serina o en un residuo de treonina. En algunas realizaciones, pTau es fosforilada en Serina en posición 409 y/o Serina en posición 404. En algunas realizaciones, pTau es fosforilada en Serina en posición 409.

Los términos “Tau soluble” o “proteína Tau soluble”, en el presente contexto, se refieren a proteínas que consisten en monómeros de proteína/ péptido Tau completamente solubilizados o en péptidos/ proteínas tipo Tau, o en péptidos/ proteínas Tau modificados o truncados o en otros derivados de monómeros de péptidos / proteínas Tau, y en oligómeros de proteínas Tau. “Tau soluble” excluye particularmente a los ovillos neurofibrilares (NFT).

El término “Tau insoluble”, en el presente contexto, se refiere a monómeros agregados múltiples de péptidos o proteínas Tau, o de péptidos/ proteínas tipo Tau, o de péptidos / proteínas Tau modificados o truncados o de otros derivados de péptidos/ proteínas Tau que forman estructuras oligoméricas o poliméricas las cuales son insolubles tanto *in vitro* en un medio acuoso como *in vivo* en el cuerpo de un mamífero o humano más particularmente en el cerebro, aunque en especial se refiere a múltiples monómeros agregados de Tau o de péptidos/ proteínas Tau modificados o truncados o de derivados de los mismos, los cuales son insolubles en el cuerpo de un mamífero o humano más específicamente en el cerebro, respectivamente. “Tau insoluble” incluye en especial a los ovillos neurofibrilares (NFT).

Los términos “Tau monomérica” o “monómero de Tau”, en el presente contexto, se refieren a proteínas Tau completamente solubilizadas sin complejos agregados en medio acuoso.

Los términos “Tau agregada”, “Tau oligomérica” y “oligómero de Tau”, en el presente contexto, se refiere a monómeros agregados múltiples de péptidos o proteínas Tau, o de péptidos/ proteínas tipo Tau, o de péptidos/ proteínas Tau modificados o truncados o de otros derivados de péptidos/ proteínas Tau que forman estructuras oligoméricas o poliméricas las cuales son insolubles o solubles tanto *in vitro* en medio acuoso como *in vivo* en el cuerpo de un mamífero o humano, más particularmente, en el cerebro, aunque particularmente a monómeros agregados múltiples de Tau o de péptidos/ proteínas Tau modificados o truncados o de derivados de los mismos, los cuales son insolubles o solubles en el cuerpo de un mamífero o de un humano, más específicamente, en el cerebro, respectivamente.

Los términos “pTau PHF”, “PHF”, y “filamentos helicoidales apareados”, se emplean en la presente invención como sinónimos, y se refieren a pares de

filamentos enrollados en hélices con una periodicidad de 160 nm visibles en microscopía electrónica. El ancho varía entre 10 y 22 nm. PHF son las estructuras predominantes en los ovillos neurofibrilares de la Enfermedad de Alzheimer (EA) y en los hilos del neurópilo. PHF también pueden verse en algunas pero no en todas las neuritas distróficas asociadas con las placas neuríticas. El componente principal de PHF es una forma hiperfosforilada de proteína tau asociada con microtúbulos. PHF pueden estar compuestos parcialmente de proteínas Tau hiperfosforiladas antiparalelas vinculadas a disulfuro. PHF Tau pueden estar truncadas de sus 20 residuos de aminoácidos de terminal C. Los mecanismos subyacentes a la formación de PHF son inciertos aunque la hiperfosforilación de Tau puede desvincularla de los microtúbulos, aumentando el grupo soluble de Tau del cual pueden formarse PHF dentro de las neuronas.

En el presente contexto, “tratamiento” (y sus variaciones gramaticales tales como “tratar” o “que trata”) se refiere a la intervención clínica en un intento de alterar el curso natural del individuo que se está tratando, y puede llevarse a cabo ya sea de manera profiláctica o durante el curso de la patología clínica. Los efectos deseables de tratamiento incluyen, meramente a título enunciativo, evitar la aparición o recurrencia de la enfermedad, alivio de los síntomas, disminución de cualquier consecuencia patológica directa o indirecta de la enfermedad, evitar la metástasis, disminuir la velocidad de progresión de la enfermedad, mejora o paliación de la patología, y remisión o prognosis mejorada. En algunas realizaciones, se emplean los anticuerpos de la invención para demorar el desarrollo de una enfermedad o desacelerar la progresión de una enfermedad.

El término “Enfermedad de Alzheimer temprana” o “EA temprana” en el presente contexto (por ej., un “paciente diagnosticado con EA temprana” o un “paciente que padece EA temprana”) incluye pacientes con deterioro cognitivo

leve, tal como un déficit de memoria, debido a EA y pacientes que tienen biomarcadores de EA, por ejemplo pacientes amiloide positivos.

El término “Enfermedad de Alzheimer leve” o “EA leve” en el presente contexto (por ej., un “paciente diagnosticado con EA leve”) se refiere a una etapa
5 de la EA caracterizada por una puntuación MMSE de 20 a 26.

El término “enfermedad de Alzheimer leve a moderada” o “EA leve a moderada” en el presente contexto abarca tanto la EA leve como moderada, y se caracteriza por una puntuación MMSE de 18 a 26.

El término “Enfermedad de Alzheimer moderada” o “EA moderada” en el
10 presente contexto (por ej., un “paciente diagnosticado con EA moderada”) se refiere a una etapa de la EA caracterizada por una puntuación MMSE de 18 a 19.

El término “MMSE” se refiere al Mini Mental State Examination (Mini Examen del Estado Mental), el cual brinda una puntuación entre 1 y 30. Ver Folstein, et al., 1975, J. Psychiatr. Res. 12:189–98. Las puntuaciones de 26 y más
15 bajas son generalmente consideradas una indicación de un déficit. Cuanto más baja es la puntuación numérica en el MMSE, mayor es el déficit o deterioro del paciente analizado con relación a otro individuo con una puntuación más baja. Un aumento en la puntuación del MMSE puede ser una indicación de una mejora en la condición del paciente, mientras que una disminución en la puntuación en el
20 MMSE puede denotar un empeoramiento en la condición del paciente.

El término “vector,” en el presente contexto, se refiere a una molécula de ácido nucleico capaz de propagar otro ácido nucleico al cual está ligado. El término incluye al vector como una estructura de ácido nucleico de autoreplicación así como también al vector incorporado en el genoma de una célula huésped en
25 la cual se ha introducido. Ciertos vectores son capaces de dirigir la expresión de ácidos nucleicos a los cuales están ligados operativamente. Dichos vectores son denominados en la presente “vectores de expresión”.

COMPOSICIONES Y MÉTODOS

Se proveen anticuerpos que se unen a Tau. En algunas realizaciones, un anticuerpo de la invención se une a Tau, se une a Tau monomérica, Tau oligomérica, Tau no fosforilada, y Tau fosforilada. En algunas realizaciones, un anticuerpo de la invención se une a un epítipo dentro de los aminoácidos 2 a 24 de Tau humana madura. En algunas realizaciones, un anticuerpo de la invención se une a un epítipo dentro de los aminoácidos 2 a 24 de Tau y se une a Tau monomérica, Tau oligomérica, Tau no fosforilada, y a Tau fosforilada. En algunas realizaciones, un anticuerpo se une a un epítipo de Tau humana que tiene, o que consiste en, la secuencia AEPRQEFVMDHAGTYGLGDRK (SEC ID NO: 2). En algunas realizaciones, un anticuerpo se une a un epítipo de Tau de mono cynomolgus que tiene, o que consiste en, la secuencia AEPRQEFVMDHAGTYGLGDRK (SEC ID NO: 4). En algunas realizaciones, un anticuerpo se une a un epítipo de Tau humana que tiene, o que consiste en, la secuencia AEPRQEFVMDHAGTYGLGDRK (SEC ID NO: 2) y un epítipo de Tau de mono cynomolgus que tiene, o que consiste en, la secuencia AEPRQEFVMDHAGTYGLGDRK (SEC ID NO: 4). En algunas realizaciones, un anticuerpo de la invención se une a un epítipo dentro de los aminoácidos 19 a 33, 19 a 42, 37 a 51, 100 a 114, 118 a 132, o 172 a 177 de Tau humana madura. En algunas realizaciones, un anticuerpo de la invención se une a un epítipo dentro de los aminoácidos 19 a 33, 19 a 42, 37 a 51, 100 a 114, 118 a 132, o 172 a 177 de Tau humana madura y se une a Tau monomérica, Tau oligomérica, Tau no fosforilada, y Tau fosforilada.

Los anticuerpos de la invención son útiles, *por ej.*, para el diagnóstico o tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

Anticuerpos Anti-Tau Ejemplares

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 12, 22, 282, 292, y 342; (b) HVR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 13, 23, 283, 293, y 343; (c) HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 14, 24, 284, 294, y 344; (d) HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 15, 25, 285, 295, 345, y 468 to 556; (e) HVR-L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 16, 26, 286, 296, y 346; y (f) HVR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 17, 27, 287, 297, y 347.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 342; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 343; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 344; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 345; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 346; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 347.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 72 y 302; (b) HVR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 73 y 303; (c) HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 74 y 304; (d) HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 75 y

305; (e) HVR–L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 76 y 306; y (f) HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 77 y 307.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 82, 312, 322, y 332; (b) HVR–H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 83, 313, 323, y 333; (c) HVR–H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 84, 314, 324, y 334; (d) HVR–L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 85, 315, 325, y 335; (e) HVR–L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 86, 316, 326, y 336; y (f) HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 87, 317, 327, y 337.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 32; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 33; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 34; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 35; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 36; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 37.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 42; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 43; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 44; (d) HVR–L1 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 45; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 46; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 47.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 52; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 53; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 54; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 55; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 56; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 57.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 62; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 63; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 64; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 65; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 66; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 67.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 72; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 73; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 74; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 75; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 76; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 77.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 82; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 83; (c) HVR-H3 que
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 84; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 85; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 86; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 87.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos
10 una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 92; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 93; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 94; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 95; (e) HVR-L2 que
15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 96; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 97.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 102; (b) HVR-H2 que
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 103; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 104; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 105; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 106; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 107.

25 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 112; (b) HVR-H2 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 113; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 114; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 115; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 116; y (f) HVR–L3 que
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 117.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 122; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 123; (c) HVR–H3 que
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 124; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 125; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 126; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 127.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que
15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 132; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 133; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 134; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 135; (e) HVR–L2 que
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 136; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 137.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que
comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 142; (b) HVR–H2 que
25 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 143; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 144; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 145; (e) HVR–L2 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 146; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 147.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 152; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 153; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 154; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 155; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 156; y (f) HVR–L3 que
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 157.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 162; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 163; (c) HVR–H3 que
15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 164; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 165; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 166; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 167.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos
20 una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 172; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 173; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 174; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 175; (e) HVR–L2 que
25 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 176; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 177.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 182; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 183; (c) HVR-H3 que
 5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 184; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 185; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 186; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 187.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos
 10 una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 192; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 193; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 194; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 195; (e) HVR-L2 que
 15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 196; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 197.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 202; (b) HVR-H2 que
 20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 203; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 204; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 205; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 206; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 207.

25 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 212; (b) HVR-H2 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 213; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 214; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 215; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 216; y (f) HVR–L3 que
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 217.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 222; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 223; (c) HVR–H3 que
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 224; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 225; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 226; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 227.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que
15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 232; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 233; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 234; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 235; (e) HVR–L2 que
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 236; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 237.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que
comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 242; (b) HVR–H2 que
25 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 243; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 244; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 245; (e) HVR–L2 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 246; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 247.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 252; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 253; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 254; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 255; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 256; y (f) HVR–L3 que
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 257.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 262; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 263; (c) HVR–H3 que
15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 264; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 265; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 266; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 267.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos
20 una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 272; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 273; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 274; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 275; (e) HVR–L2 que
25 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 276; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 277.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 282; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 283; (c) HVR-H3 que
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 284; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 285; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 286; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 287.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos
10 una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 292; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 293; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 294; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 295; (e) HVR-L2 que
15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 296; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 297.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 302; (b) HVR-H2 que
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 303; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 304; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 305; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 306; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 307.

25 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 312; (b) HVR-H2 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 313; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 314; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 315; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 316; y (f) HVR–L3 que
 5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 317.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 322; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 323; (c) HVR–H3 que
 10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 324; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 325; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 326; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 327.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que
 15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 332; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 333; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 334; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 335; (e) HVR–L2 que
 20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 336; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 337.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende una
 secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 12, 22, 282, 292, y
 25 342; (b) HVR–H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 13, 23, 283, 293, y 343; y (c) HVR–H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 14, 24, 284, 294, y

344. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 12, 22, 282, 292, y 342; (b) HVR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 13, 23, 283, 293, y 343; y (c) HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 14, 24, 284, 294, y 344.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 342; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 343; y (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 344. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 342; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 343; y (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 344.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 72 y 302; (b) HVR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 73 y 303; y (c) HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 74 y 304. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 72 y 302; (b) HVR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 73 y 303; y (c) HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 74 y 304.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 82, 312, 322, y 332; (b) HVR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 83, 313, 323, y 333; y (c) HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 84, 314, 324, y 334. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 82, 312, 322, y 332; (b) HVR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 83, 313, 323, y 333; y (c) HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 84, 314, 324, y 334.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 32; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 33; y (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 34. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 32; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 33; y (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 34.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 42; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 43; y (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 44. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 42; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEC ID NO: 43; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 44.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 52; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 53; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 54. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 52; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de
10 aminoácidos de SEC ID NO: 53; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 54.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 62; (b) HVR–H2 que comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 63; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 64. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 62; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 63; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de
20 aminoácidos de SEC ID NO: 64.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 72; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 73; y (c) HVR–H3 que comprende la
25 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 74. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 72; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEC ID NO: 73; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 74.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 82; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 83; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 84. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 82; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de
10 aminoácidos de SEC ID NO: 83; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 84.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 92; (b) HVR–H2 que comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 93; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 94. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 92; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 93; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de
20 aminoácidos de SEC ID NO: 94.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 102; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 103; y (c) HVR–H3 que comprende la
25 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 104. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 102; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEC ID NO: 103; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 104.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 112; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 113; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 114. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 112; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de
10 aminoácidos de SEC ID NO: 113; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 114.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 122; (b) HVR–H2 que comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 123; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 124. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 122; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 123; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de
20 aminoácidos de SEC ID NO: 124.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 132; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 133; y (c) HVR–H3 que comprende la
25 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 134. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 132; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEC ID NO: 133; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 134.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 142; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 143; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 144. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 142; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de
10 aminoácidos de SEC ID NO: 143; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 144.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 152; (b) HVR–H2 que comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 153; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 154. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 152; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 153; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de
20 aminoácidos de SEC ID NO: 154.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 162; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 163; y (c) HVR–H3 que comprende la
25 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 164. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 162; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEC ID NO: 163; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 164.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 172; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 173; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 174. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 172; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de
10 aminoácidos de SEC ID NO: 173; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 174.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 182; (b) HVR–H2 que comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 183; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 184. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 182; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 183; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de
20 aminoácidos de SEC ID NO: 184.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 192; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 193; y (c) HVR–H3 que comprende la
25 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 194. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 192; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEC ID NO: 193; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 194.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 202; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 203; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 204. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 202; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de
10 aminoácidos de SEC ID NO: 203; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 204.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 212; (b) HVR–H2 que comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 213; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 214. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 212; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 213; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de
20 aminoácidos de SEC ID NO: 214.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 222; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 223; y (c) HVR–H3 que comprende la
25 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 224. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 222; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEC ID NO: 223; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 224.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 232; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 233; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 234. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 232; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de
10 aminoácidos de SEC ID NO: 233; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 234.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 242; (b) HVR–H2 que comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 243; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 244. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 242; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 243; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de
20 aminoácidos de SEC ID NO: 244.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 252; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 253; y (c) HVR–H3 que comprende la
25 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 254. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 252; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEC ID NO: 253; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 254.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 262; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 263; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 264. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 262; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de
10 aminoácidos de SEC ID NO: 263; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 264.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 272; (b) HVR–H2 que comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 273; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 274. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 272; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 273; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de
20 aminoácidos de SEC ID NO: 274.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 282; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 283; y (c) HVR–H3 que comprende la
25 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 284. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 282; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEC ID NO: 283; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 284.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 292; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 293; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 294. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 292; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de
10 aminoácidos de SEC ID NO: 293; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 294.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 302; (b) HVR–H2 que comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 303; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 304. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 302; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 303; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de
20 aminoácidos de SEC ID NO: 304.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 312; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 313; y (c) HVR–H3 que comprende la
25 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 314. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 312; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEC ID NO: 313; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 314.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la
 5 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 322; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 323; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 324. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 322; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de
 10 aminoácidos de SEC ID NO: 323; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 324.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 332; (b) HVR–H2 que comprende la
 15 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 333; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 334. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 332; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 333; y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de
 20 aminoácidos de SEC ID NO: 334.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 15, 25, 285, 295, 345, y 468 to 556; (b) HVR–L2 que comprende una secuencia de aminoácidos
 25 seleccionada entre SEC ID NOs: 16, 26, 286, 296, y 346; y (c) HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 17, 27, 287, 297, y 347. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende

(a) HVR–L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 15, 25, 285, 295, 345, y 468 to 556; (b) HVR–L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 16, 26, 286, 296, y 346; y (c) HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada
5 entre SEC ID NOs: 17, 27, 287, 297, y 347.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 345; (b) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 346; y (c) HVR–L3 que comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 347. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 345; (b) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 346; y (c) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 347.

15 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 75 y 305; (b) HVR–L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 76 y 306; y (c) HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos
20 seleccionada entre SEC ID NOs: 77 y 307. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 75 y 305; (b) HVR–L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 76 y 306; y (c) HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada
25 entre SEC ID NOs: 77 y 307.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–L1 que comprende una

secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 85, 315, 325, y 335; (b) HVR–L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 86, 316, 326, y 336; y (c) HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 87, 317, 327, y 337. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 85, 315, 325, y 335; (b) HVR–L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 86, 316, 326, y 336; y (c) HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 87, 317, 327, y 337.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 35; (b) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 36; y (c) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 37. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 35; (b) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 36; y (c) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 37.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 45; (b) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 46; y (c) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 47. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 45; (b) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 46; y (c) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 47.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 55; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 56; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 57. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 55; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 56; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 57.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 65; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 66; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 67. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 65; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 66; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 67.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 75; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 76; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 77. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 75; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 76; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 77.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 85; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 86; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 87. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 85; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 86; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 87.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 95; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 96; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 97. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 95; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 96; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 97.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 105; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 106; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 107. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 105; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 106; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 107.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 115; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 116; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 117. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 115; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 116; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 117.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 125; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 126; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 127. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 125; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 126; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 127.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 135; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 136; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 137. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 135; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 136; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 137.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 145; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 146; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 147. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 145; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 146; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 147.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 155; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 156; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 157. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 155; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 156; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 157.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 165; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 166; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 167. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 165; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 166; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 167.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 175; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 176; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 177. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 175; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 176; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 177.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 185; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 186; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 187. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 185; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 186; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 187.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 195; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 196; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 197. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 195; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 196; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 197.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 205; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 206; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 207. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 205; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 206; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 207.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 215; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 216; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 217. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 215; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 216; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 217.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 225; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 226; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 227. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 225; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 226; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 227.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 235; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 236; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 237. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 235; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 236; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 237.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 245; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 246; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 247. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 245; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 246; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 247.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 255; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 256; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 257. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 255; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 256; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 257.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 265; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 266; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 267. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 265; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 266; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 267.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 275; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 276; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 277. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 275; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 276; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 277.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 285; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 286; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 287. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 285; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 286; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 287.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 295; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 296; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 297. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 295; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 296; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 297.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 305; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 306; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 307. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 305; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 306; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 307.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 315; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 316; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 317. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 315; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 316; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 317.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 325; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 326; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 327. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 325; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 326; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 327.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende por lo menos una, dos o tres HVRs seleccionadas entre (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 335; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 336; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 337. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 335; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 336; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 337.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 12, 22, 282, 292, y 342; (b) HVR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 13, 23, 283, 293, y 343; (c) HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 14, 24, 284, 294, y 344; (d) HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 15, 25, 285, 295, 345, y 468 to 556; (e) HVR-L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 16, 26, 286, 296, y 346; y (f) HVR-L3 que comprende una

secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 17, 27, 287, 297, y 347.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 342; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 343; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 344; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 345; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 346; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 347.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 72 y 302; (b) HVR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 73 y 303; (c) HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 74 y 304; (d) HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 75 y 305; (e) HVR-L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 76 y 306; y (f) HVR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 77 y 307.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 82, 312, 322, y 332; (b) HVR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 83, 313, 323, y 333; (c) HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 84, 314, 324, y 334; (d) HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 85, 315, 325, y 335; (e) HVR-L2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 86, 316, 326, y 336; y

(f) HVR–L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEC ID NOs: 87, 317, 327, y 337.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 32; (b) HVR–H2 que
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 33; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 34; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 35; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 36; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 37.

10 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 42; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 43; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 44; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 45; (e) HVR–L2 que
15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 46; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 47.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 52; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 53; (c) HVR–H3 que
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 54; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 55; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 56; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 57.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1
25 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 62; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 63; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 64; (d) HVR–L1 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 65; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 66; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 67.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1
 5 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 72; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 73; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 74; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 75; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 76; y (f) HVR–L3 que
 10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 77.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 82; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 83; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 84; (d) HVR–L1 que
 15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 85; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 86; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 87.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 92; (b) HVR–H2 que
 20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 93; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 94; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 95; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 96; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 97.

25 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 102; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 103; (c) HVR–H3

que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 104; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 105; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 106; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 107.

5 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 112; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 113; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 114; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 115; (e) HVR–L2
10 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 116; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 117.

 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 122; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 123; (c) HVR–H3
15 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 124; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 125; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 126; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 127.

 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1
20 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 132; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 133; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 134; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 135; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 136; y (f) HVR–L3
25 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 137.

 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 142; (b) HVR–H2

que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 143; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 144; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 145; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 146; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 147.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 152; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 153; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 154; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 155; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 156; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 157.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 162; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 163; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 164; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 165; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 166; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 167.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 172; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 173; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 174; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 175; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 176; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 177.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 182; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 183; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 184; (d) HVR-L1
 5 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 185; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 186; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 187.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 192; (b) HVR-H2
 10 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 193; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 194; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 195; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 196; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 197.

15 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 202; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 203; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 204; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 205; (e) HVR-L2
 20 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 206; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 207.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 212; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 213; (c) HVR-H3
 25 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 214; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 215; (e) HVR-L2

que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 216; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 217.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 222; (b) HVR-H2
5 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 223; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 224; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 225; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 226; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 227.

10 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 232; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 233; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 234; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 235; (e) HVR-L2
15 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 236; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 237.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 242; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 243; (c) HVR-H3
20 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 244; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 245; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 246; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 247.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-Tau comprende (a) HVR-H1
25 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 252; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 253; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 254; (d) HVR-L1

que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 255; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 256; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 257.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1
 5 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 262; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 263; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 264; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 265; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 266; y (f) HVR–L3
 10 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 267.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 272; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 273; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 274; (d) HVR–L1
 15 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 275; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 276; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 277.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 282; (b) HVR–H2
 20 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 283; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 284; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 285; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 286; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 287.

25 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 292; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 293; (c) HVR–H3

que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 294; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 295; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 296; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 297.

5 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 302; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 303; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 304; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 305; (e) HVR–L2
10 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 306; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 307.

 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 312; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 313; (c) HVR–H3
15 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 314; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 315; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 316; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 317.

 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1
20 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 322; (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 323; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 324; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 325; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 326; y (f) HVR–L3
25 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 327.

 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende (a) HVR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 332; (b) HVR–H2

- que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 333; (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 334; (d) HVR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 335; (e) HVR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 336; y (f) HVR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 337.

En cualquiera de las realizaciones antes mencionada, un anticuerpo anti–Tau es humanizado. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti–Tau comprende HVRs como en cualquiera de las realizaciones precedentes, y comprende además una estructura humana aceptora, por ej. una estructura de inmunoglobulina humana o una estructura consenso humana.

En otro aspecto, un anticuerpo anti–Tau comprende una secuencia de dominio variable de cadena pesada (VH) que tiene por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% de identidad de secuencia con secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330 o 340. En ciertas realizaciones, una secuencia de VH que tiene por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad contiene sustituciones (*por ej.*, sustituciones conservadoras), inserciones, o deleciones con relación a la secuencia de referencia, aunque un anticuerpo anti–Tau que comprende esa secuencia retiene la capacidad de unirse a Tau. En ciertas realizaciones, un total de 1 a 10 aminoácidos han sido sustituidos, insertados y/o suprimidos en SEC ID NO: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330 o 340. En ciertas realizaciones, las sustituciones, inserciones o supresiones se producen en regiones fuera de las HVRs (es decir, en las FRs). Opcionalmente, el anticuerpo anti–Tau comprende la secuencia de VH en SEC ID NO: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110,

120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330 o 340, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esa secuencia. En una realización particular, la VH comprende una, dos o tres HVRs seleccionadas entre: (a) HVR–H1 que
 5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 12, 22, 32, 42, 52, 62, 72, 82, 92, 102, 112, 122, 132, 142, 152, 162, 172, 182, 192, 202, 212, 222, 232, 242, 252, 262, 272, 282, 292, 302, 312, 322, 332, o 342, (b) HVR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 100, 113, 123, 133, 143, 153, 163, 173, 183, 193, 203, 213, 223, 233,
 10 243, 253, 263, 273, 283, 293, 303, 313, 323, 333, o 343, y (c) HVR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 14, 24, 34, 44, 54, 64, 74, 84, 94, 104, 114, 124, 134, 144, 154, 164, 174, 184, 194, 204, 214, 224, 234, 244, 254, 264, 274, 284, 294, 304, 314, 324, 334, o 344.

En otro aspecto, un anticuerpo anti–Tau comprende una secuencia de
 15 dominio variable de cadena ligera (VL) que tiene por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121, 131, 141, 151, 161, 171, 181, 191, 201, 211, 221, 231, 241, 251, 261, 271, 281, 291, 301, 311, 321, 331, o 341. En ciertas realizaciones, una secuencia
 20 de VL que tiene por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad contiene sustituciones (*por ej.*, sustituciones conservadoras), inserciones, o supresiones con relación a la secuencia de referencia, aunque un anticuerpo anti–Tau que comprende esa secuencia retiene la capacidad de unirse a Tau. En ciertas realizaciones, un total de 1 a 10 aminoácidos han sido
 25 sustituidos, insertados y/o suprimidos en SEC ID NO: 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121, 131, 141, 151, 161, 171, 181, 191, 201, 211, 221, 231, 241, 251, 261, 271, 281, 291, 301, 311, 321, 331 o 341. En ciertas realizaciones, las

sustituciones, inserciones o supresiones se producen en regiones fuera de las HVRs (es decir, en las FRs). Opcionalmente, el anticuerpo anti-Tau comprende la secuencia de VL en SEC ID NO: 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121, 131, 141, 151, 161, 171, 181, 191, 201, 211, 221, 231, 241, 251, 261, 271, 281, 291, 301, 311, 321, 331 o 341, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esa secuencia. En una realización particular, la VL comprende una, dos o tres HVRs seleccionadas entre: (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 15, 25, 35, 45, 55, 65, 75, 85, 95, 105, 115, 125, 135, 145, 155, 165, 175, 185, 195, 205, 215, 225, 235, 245, 255, 265, 275, 285, 295, 305, 315, 325, 335, o 345, (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 16, 26, 36, 46, 56, 66, 76, 86, 96, 106, 116, 126, 136, 146, 156, 166, 176, 186, 196, 206, 216, 226, 236, 246, 266, 266, 276, 286, 296, 306, 316, 326, 336, o 346, y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 17, 27, 37, 47, 57, 67, 77, 87, 97, 107, 117, 127, 137, 147, 157, 167, 177, 187, 197, 207, 217, 227, 237, 247, 267, 277, 277, 287, 297, 307, 317, 327, 337, o 347.

En otro aspecto, se provee un anticuerpo anti-Tau, donde el anticuerpo comprende una VH como en cualquiera de las realizaciones proporcionadas anteriormente, y una VL como en cualquiera de las realizaciones proporcionadas anteriormente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en SEC ID NO: 280 y SEC ID NO: 281, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas secuencias. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en SEC ID NO: 290 y SEC ID NO: 291, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas secuencias. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en SEC ID NO: 300 y SEC ID NO: 301, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas

secuencias. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en SEC ID NO: 310 y SEC ID NO: 311, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas secuencias. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en SEC ID NO: 320 y SEC ID NO: 321, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas secuencias. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en SEC ID NO: 330 y SEC ID NO: 331, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas secuencias. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en SEC ID NO: 340 y SEC ID NO: 341, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En algunas realizaciones, se provee un anticuerpo anti-Tau, donde el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 348 o SEC ID NO: 602 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 349. En algunas realizaciones, se provee un anticuerpo anti-Tau, donde el anticuerpo comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 348 o SEC ID NO: 602 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 349.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un anticuerpo anti-Tau proporcionado en la presente invención. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, se provee un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un anticuerpo seleccionado entre 94B2-C1, 125B11-H3, 37D3-H9, y hu37D3-H9.v28.A4. En ciertas realizaciones, se proporciona un anticuerpo que se une a un epítipo dentro de un fragmento de Tau que consiste en los aminoácidos 2-24 de SEC ID NO: 2. En ciertas realizaciones, se provee un anticuerpo que se une a un epítipo dentro de un fragmento de Tau que

consiste en los aminoácidos 7-24 de SEC ID NO: 2. En ciertas realizaciones, se provee un anticuerpo que se une a un epítopo dentro de un fragmento de Tau que consiste en los aminoácidos 7-20 de SEC ID NO: 2. En ciertas realizaciones, se provee un anticuerpo que se une a un epítopo dentro de un fragmento de Tau que

5 consiste en los aminoácidos 10-24 de SEC ID NO: 2. En ciertas realizaciones, se provee un anticuerpo que se une a un epítopo dentro de un fragmento de Tau que consiste en los aminoácidos 7-21 de SEC ID NO: 2. En ciertas realizaciones, se provee un anticuerpo que se une a un epítopo dentro de un fragmento de Tau que consiste en los aminoácidos 8-22 de SEC ID NO: 2. En ciertas realizaciones, se

10 provee un anticuerpo que se une a un epítopo dentro de un fragmento de Tau que consiste en los aminoácidos 11-25 de SEC ID NO: 2. En ciertas realizaciones, se provee un anticuerpo que se une a uno o más, o a todos, de los siguientes fragmentos de Tau: 2-24, 7-24, 7-20, 10-24, 7-21, 8-22, y 11-25. En algunas realizaciones, se provee un anticuerpo que se une a un péptido que tiene la

15 secuencia de SEC ID NO: 593, pero no se une a un péptido que tiene la secuencia de SEC ID NO: 596 o SEC ID NO: 597.

En un aspecto adicional de la invención, un anticuerpo anti-Tau de acuerdo con cualquiera de las realizaciones antes mencionadas es un anticuerpo monoclonal, que incluye un anticuerpo quimérico, humanizado o humano. En una

20 realización, un anticuerpo anti-Tau es un fragmento de anticuerpo, *por ej.*, un fragmento Fv, Fab, Fab', scFv, diacuerpo, o fragmento F(ab')₂. En otra realización, el anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa, *por ej.*, un anticuerpo intacto de IgG1 o IgG4 u otra clase o isotipo de anticuerpo según lo definido en esta invención.

25 En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-Tau de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores puede incorporar cualquiera de las características,

en forma individual o en combinación, según lo descrito en las Secciones 1–7 que aparecen más adelante:

Afinidad de Anticuerpo

En ciertas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en esta invención
 5 tiene una constante de disociación (K_D) de $\leq 1\mu\text{M}$, $\leq 100\text{ nM}$, $\leq 10\text{ nM}$, $\leq 1\text{ nM}$,
 $\leq 0.1\text{ nM}$, $\leq 0.01\text{ nM}$, o $\leq 0.001\text{ nM}$ (*por ej.* 10^{-8} M o menos, *por ej.* entre 10^{-8} M y
 10^{-13} M , *por ej.*, entre 10^{-9} M y 10^{-13} M).

En algunas realizaciones, la K_D se mide mediante un ensayo de unión al
 antígeno radioetiquetado (RIA, por sus siglas en inglés). En algunas realizaciones,
 10 un RIA se realiza con la versión de Fab de un anticuerpo de interés y su antígeno.
 Por ejemplo, se mide la afinidad de unión en solución de Fabs equilibrando Fab
 con una concentración mínima de antígeno (^{125}I)–etiquetado en presencia de una
 serie de titulación de antígeno no etiquetado, luego capturando el antígeno unido
 con una placa recubierta con anticuerpo anti–Fab (ver, *por ej.*, Chen et al., *J. Mol.*
 15 *Biol.* 293:865–881(1999)). Para establecer las condiciones para el ensayo, se
 recubren placas de múltiples pocillos MICROTITER® (Thermo Scientific) durante
 toda la noche con $5\text{ }\mu\text{g/ml}$ de un anticuerpo anti–Fab de captura (Cappel Labs) en
 carbonato sódico 50 mM (pH 9.6), y y posteriormente se bloquea con 2% de
 seroalbúmina bovina (p/v) en PBS durante dos a cinco horas a temperatura
 20 ambiente (aproximadamente 23°C). En una placa no adsorbente (Nunc #269620),
 se mezclan 100 pM o 26 pM de ^{125}I –antígeno con diluciones seriadas de un Fab
 de interés (*por ej.*, de manera consistente con la evaluación del anticuerpo anti–
 VEGF, Fab–12, en Presta et al., *Cancer Res.* 57:4593–4599 (1997)). Luego se
 incuba el Fab de interés durante toda la noche; sin embargo, la incubación puede
 25 continuar durante un período más largo (*por ej.*, aproximadamente 65 horas) para
 asegurar que se alcanza ese equilibrio. A continuación, se transfieren las
 mezclas a la placa de captura para la incubación a temperatura ambiente (*por ej.*,

durante una hora). Luego, la solución se retira y la placa se lava ocho veces con 0,1% polisorbato 20 (TWEEN-20®) en PBS. Cuando las placas se han secado, se agregan 150 µl/pocillo de agente de centelleo (MICROSCINT-20™; Packard), y se cuentan las placas en un contador gamma TOPCOUNT™ (Packard) durante
 5 diez minutos. Se eligen las concentraciones de cada Fab que dan menos de o igual a 20% de la unión máxima para utilizar en ensayos de unión competitiva.

De acuerdo con otra realización, K_D se mide empleando un ensayo de resonancia de plasmón superficial BIACORE®. Por ejemplo, se realiza un ensayo empleando un BIACORE®-2000 o un BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc.,
 10 Piscataway, NJ) a 25°C con chips de antígeno inmovilizado CM5 a ~10 unidades de resonancia (UR). En algunas realizaciones, se activan chips biosensores de dextrano carboximetilado (CM5, BIACORE, Inc.) con clorhidrato de *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC) y *N*-hidroxisuccinimida (NHS) de acuerdo con las instrucciones del proveedor. Se diluye el antígeno con acetato sódico 10
 15 mM, pH 4.8, hasta 5 µg/ml (~0.2 µM) antes de la inyección a una velocidad de flujo de 5 µl/minuto para lograr aproximadamente 10 unidades de resonancia (UR) de proteína acoplada. Luego de la inyección de antígeno, se inyecta etanolamina 1 M para bloquear los grupos sin reaccionar. Para las mediciones de la cinética, se inyectan diluciones seriadas dobles de Fab (0.78 nM a 500 nM) en PBS con
 20 0.05% de surfactante de polisorbato 20 (TWEEN-20™) (PBST) a 25°C a una velocidad de flujo de aproximadamente 25 µl/min. Se calculan las velocidades de asociación (k_{ON}) y las velocidades de disociación (k_{OFF}) empleando un modelo simple de unión Langmuir uno a uno (BIACORE® Evaluation Software versión 3.2) ajustando en forma simultánea los sensogramas de asociación y disociación.
 25 Se calcula la constante de disociación en equilibrio (K_D) como la relación k_{OFF}/k_{ON} . Ver, por ej., Chen et al., *J. Mol. Biol.* 293:865–881 (1999). Si la velocidad de asociación excede $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ mediante el ensayo de resonancia de plasmón

de superficie mencionado anteriormente, entonces se puede determinar la velocidad de asociación empleando una técnica de templado fluorescente que mide el aumento o disminución de la intensidad de emisión de fluorescencia (excitación = 295 nm; emisión = 340 nm, 16 nm pase de banda) a 25°C de un anticuerpo anti-antígeno de 20 nM (forma de Fab) en PBS, pH 7.2, en presencia de concentraciones en aumento de antígeno según lo medido en un espectrómetro, tal como un espectrómetro equipado con flujo de parada (Aviv Instruments) o un espectrofotómetro serie 8000 SLM-AMINCO™ (ThermoSpectronic) con una cubeta agitadora.

2. Fragmentos de Anticuerpo

En ciertas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en la presente es un fragmento de anticuerpo. Los fragmentos de anticuerpo incluyen, meramente a título enunciativo, fragmentos Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv y scFv, y otros fragmentos descritos más adelante. Para una revisión de ciertos fragmentos de anticuerpos, véase Hudson et al. *Nat. Med.* 9:129–134 (2003). Para una revisión de fragmentos scFv, véase, *por ej.*, Pluckthün, en *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, Nueva York), pp. 269–315 (1994); véase además WO 93/16185; y Patentes Estadounidenses Nos. 5.571.894 y 5.587.458. Para una descripción de los fragmentos Fab y F(ab')₂ que comprenden residuos de epítipo de unión al receptor de rescate y que tienen aumento de la vida media *in vivo*, véase la Patente Estadounidense No. 5.869.046.

Los diacuerpos son fragmentos de anticuerpo con dos sitios de unión al antígeno que pueden ser bivalentes o biespecíficos. Véase, por ejemplo, EP 404.097; WO 1993/01161; Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129–134 (2003); y Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444–6448 (1993). Se describen también triacuerpos y tetracuerpos en Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129–134 (2003).

Los anticuerpos de un solo dominio son fragmentos de anticuerpo que comprenden la totalidad o una porción del dominio variable de la cadena pesada o la totalidad o una porción del dominio variable de la cadena ligera de un anticuerpo. En ciertas realizaciones, un anticuerpo de un solo dominio es un anticuerpo humano de un solo dominio (Domantis, Inc., Waltham, MA; *ver, por ej.*, Patente Estadounidense No. 6.248.516 B1).

Pueden prepararse fragmentos de anticuerpo mediante diversas técnicas, incluyendo meramente a título enunciativo digestión proteolítica de un anticuerpo intacto así como también producción mediante células huéspedes recombinantes (*por ej. E. coli* o fago), según lo descrito en esta invención.

3. Anticuerpos Quiméricos y Humanizados

En ciertas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en la presente es un anticuerpo quimérico. Se describen ciertos anticuerpos quiméricos, *por ej.*, en la Patente Estadounidense No. 4.816.567; y Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851–6855 (1984)). En un ejemplo, un anticuerpo quimérico comprende una región variable no humana (*por ej.*, una región variable derivada de un ratón, rata, hámster, conejo, o primate no humano, tal como un mono) y una región constante humana. En un ejemplo adicional, un anticuerpo quimérico es un anticuerpo “con cambio de clase” en el cual se ha cambiado la clase o subclase de aquella del anticuerpo parental. Los anticuerpos quiméricos incluyen a sus fragmentos de unión al antígeno.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo quimérico es un anticuerpo humanizado. En general, un anticuerpo no humano es humanizado para reducir la inmunogenicidad en los seres humanos, reteniendo al mismo tiempo la especificidad y la afinidad del anticuerpo no humano parental. En general, un anticuerpo humanizado comprende uno o más dominios variables en los cuales HVRs, *por ej.*, CDRs, (o las porciones de las mismas) son derivadas de un

anticuerpo no humano, y FRs (o las porciones de las mismas) son derivadas de secuencias de anticuerpos humanos. Un anticuerpo humanizado opcionalmente comprenderá además por lo menos una porción de una región constante humana. En algunas realizaciones, algunos residuos de FR en un anticuerpo humanizado
 5 son sustituidos con residuos correspondientes de un anticuerpo no humano (*por ej.*, el anticuerpo del cual derivan los residuos de HVR), *por ej.*, para restaurar o mejorar la especificidad o afinidad del anticuerpo.

Los anticuerpos humanizados y los métodos para su preparación son revisados, *por ej.*, en Almagro y Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619–1633 (2008), y
 10 son descritos adicionalmente, *por ej.*, en Riechmann et al., *Nature* 332:323–329 (1988); Queen et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029–10033 (1989); Patentes Estadounidenses Nos. 5.821.337, 7.527.791, 6.982.321, y 7.087.409; Kashmiri et al., *Methods* 36:25–34 (2005) (describen injerto de regiones determinantes de especificidad (SDR, por sus siglas en inglés)); Padlan, *Mol.*
 15 *Immunol.* 28:489–498 (1991) (que describe el "revestimiento" ("resurfacing")); Dall'Acqua et al., *Methods* 36: 43–60 (2005) (que describe "barajado de FR" ("FR shuffling")); y Osbourn et al., *Methods* 36: 61–68 (2005) y Klimka et al, *Br. J. Cancer*, 83: 252–260 (2000) (que describe el enfoque de "selección guiada" para el barajado de FR).

20 Las regiones de estructura humanas que pueden usarse para la humanización incluyen, pero no se limitan a: regiones de estructura seleccionadas utilizando el método de "mejor ajuste" (véase, *por ejemplo*, Sims et al. *J. Immunol.* 151: 2296 (1993)); regiones de estructura derivadas de la secuencia de consenso de los anticuerpos humanos de un subgrupo particular de regiones variables de
 25 cadena ligera o pesada (ver, por ejemplo, Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); y Presta et al. *J. Immunol*, 151:2623 (1993)); regiones de estructura maduras humanas (somáticamente mutadas) o regiones de estructura

de la línea germinal humana (ver, por ejemplo, Almagro y Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619–1633 (2008)); y regiones de estructura derivadas de selección de genotecas de FR (véase, por ejemplo, Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272: 10678–10684 (1997) y Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271 :22611–22618 (1996)).

5

4. Anticuerpos humanos

En ciertas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en la presente invención es un anticuerpo humano. Los anticuerpos humanos pueden ser producidos utilizando diversas técnicas conocidas en la técnica. Los anticuerpos

10 humanos son descritos, en general, en van Dijk y van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368–74 (2001) y Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450–459 (2008).

Los anticuerpos humanos pueden ser preparados administrando un inmunógeno a un animal transgénico que ha sido modificado para producir anticuerpos humanos intactos o anticuerpos intactos con regiones variables

15 humanas como respuesta al desafío antigénico. Dichos animales en general contienen la totalidad o una porción de los sitios de inmunoglobulina humana, los cuales reemplazan a los sitios de inmunoglobulina endógena, o los cuales están presentes extracromosómicamente o están integrados al azar en los cromosomas del animal. En dichos ratones transgénicos, los sitios de inmunoglobulina

20 endógena han sido generalmente inactivados. Para una revisión de los métodos para obtener anticuerpos humanos a partir de animales transgénicos, véase Lonberg, *Nat. Biotech.* 23: 1117–1125 (2005). Véase además, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos de América Nos. 6.075.181 y 6.150.584 que describen la tecnología XENOMOUSE™; Patente de los Estados Unidos de

25 América N° 5.770.429 que describe la tecnología HUMAB®; Patente de los Estados Unidos de América N° 7.041.870 que describe la tecnología K–M MOUSE®, y la Publicación de la Solicitud de Patente Estadounidense No. US

2007/0061900, que describe la tecnología VELOCIMOUSE®). Las regiones variables humanas de anticuerpos intactos generados por dichos animales pueden ser adicionalmente modificadas, por ejemplo, combinando con una región constante humana diferente.

5 Los anticuerpos humanos también pueden ser preparados mediante métodos basados en hibridoma. Se han descrito líneas celulares de mieloma humano y de heteromieloma de ratón–humano para la producción de anticuerpos monoclonales humanos. (Véase, por ejemplo, Kozbor *J. Immunol*, 133: 3001 (1984); Brodeur *et al.*, *Monoclonal Antibody Production Techniques and*
 10 *Applications*, pp. 51–63 (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1987); y Boerner *et al.*, *J. Immunol.*, 147:86 (1991)). Los anticuerpos humanos generados por medio de la tecnología de hibridoma de células B humanas son también descritos en Li *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557–3562 (2006). Los métodos adicionales incluyen aquellos descritos, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos de
 15 América Nº 7.189.826 (que describe la producción de anticuerpos de IgM humana monoclonales de líneas celulares de hibridoma) y Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265–268 (2006) (que describe hibridomas humano–humano). La tecnología de hibridoma humano (tecnología de Trioma) es también descrita en Vollmers y Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927–937 (2005) y Vollmers y
 20 Brandlein, *Methods and Findings in Experimental y Clinical Pharmacology*, 27(3): 185–191 (2005).

Los anticuerpos humanos también pueden ser generados aislando secuencias de dominio variable de clon Fv seleccionadas de genotecas de exhibición en fagos derivadas de humano. Luego, dichas secuencias de dominio
 25 variable pueden ser combinadas con un dominio constante humano deseado. Las técnicas para seleccionar anticuerpos humanos de las genotecas de anticuerpos son descritas más adelante.

5. Anticuerpos Derivados de Genotecas

Los anticuerpos de la invención pueden ser aislados por screening de genotecas combinatorias para anticuerpos con la actividad o actividades
 5 deseadas. Por ejemplo, se conocen diversos métodos en la técnica para generar genotecas de exhibición en fagos y el screening de dichas genotecas para seleccionar anticuerpos que poseen las características deseadas de unión. Dichos métodos son revisados, por ejemplo, en Hoogenboom *et al.* en *Methods in Molecular Biology* 178: 1–37 (O'Brien *et al.*, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) y descritos adicionalmente, por ejemplo, en the McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552–
 10 554; Clackson *et al.*, *Nature* 352: 624–628 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222: 581–597 (1992); Marks y Bradbury, en *Methods in Molecular Biology* 248: 161–175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu *et al.*, *J. Mol. Biol.* 338(2): 299–310 (2004); Lee *et al.*, *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073–1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467–12472 (2004); y Lee *et al.*, *J. Immunol. Methods* 284(1–2): 119–132 (2004).

En ciertos métodos de exhibición en fagos, se clonan por separado repertorios de genes VH y VL mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) y se recombinan al azar en genotecas de fagos, que
 20 luego pueden seleccionarse para fago de unión al antígeno según lo descrito en Winter *et al.*, *Ann. Rev. Immunol.*, 12:433–455 (1994). El fago típicamente exhibe fragmentos de anticuerpos, ya sea como fragmentos Fv monocatenarios (scFv) o como fragmentos Fab. Las genotecas de fuentes inmunizadas proporcionan anticuerpos de alta afinidad contra el inmunógeno sin el requerimiento de
 25 construir hibridomas. Alternativamente, se puede clonar el repertorio sin tratamiento con el fármaco de ensayo (“naive”) (por ejemplo, de humano) para proporcionar una única fuente de anticuerpos contra un amplio rango de no

autoantígenos y también autoantígenos sin inmunización alguna según lo descrito por Griffiths *et al.*, *EMBO J* 12:725–734 (1993). Finalmente, también pueden prepararse genotecas naïve sintéticamente clonando segmentos génicos V no reordenados de células madre, y utilizando cebadores de PCR que contienen

5 secuencia al azar para codificar las regiones CDR3 altamente variables y lograr el reordenamiento in vitro, según lo descrito por Hoogenboom y Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381–388 (1992). Las publicaciones de patente que describen genotecas de fagos de anticuerpos humanos incluyen, por ejemplo: Patente Estadounidense No. 5.750.373, y Publicaciones de Patentes Estadounidenses Nos.

10 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936, y 2009/0002360.

Los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos aislados de genotecas de anticuerpos humanos son considerados anticuerpos humanos o fragmentos de anticuerpos humanos en esta invención.

15 **6. Anticuerpos Multiespecíficos**

En ciertas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en la presente es un anticuerpo multiespecífico, *por ej.* un anticuerpo biespecífico. Los anticuerpos multiespecíficos son anticuerpos monoclonales que tienen especificidades de unión para por lo menos dos sitios diferentes. En ciertas realizaciones, una de las

20 especificidades de unión es para Tau y la otra es para cualquier otro antígeno. En ciertas realizaciones, una de las especificidades de unión es para Tau y la otra es para beta amiloide. En ciertas realizaciones, los anticuerpos biespecíficos pueden unirse a dos epítomos diferentes de Tau. Los anticuerpos biespecíficos también pueden ser empleados para localizar agentes citotóxicos a células que expresan

25 Tau. Los anticuerpos biespecíficos pueden ser preparados como anticuerpos de longitud completa o fragmentos de anticuerpos.

Las técnicas para preparar anticuerpos multiespecíficos incluyen, meramente a título enunciativo, coexpresión recombinante de dos pares de cadena pesada – cadena ligera de inmunoglobulina que tienen diferentes especificidades (ver Milstein y Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)), WO 93/08829, y

5 Traunecker et al., *EMBO J.* 10: 3655 (1991)), e ingeniería “bulto en agujero” (“knob-in-hole”) (ver, *por ej.*, Patente de los Estados Unidos No. 5.731.168). Los anticuerpos multiespecíficos también pueden ser preparados mediante la construcción de efectos de maniobras electrostáticas para preparar moléculas heterodiméricas de Fc de anticuerpo (WO 2009/089004A1); entrecruzando dos o

10 más anticuerpos o fragmentos (ver, *por ej.*, la Patente de los Estados Unidos de América No. 4.676.980, y Brennan et al., *Science*, 229: 81 (1985)); empleando cierres de leucina para producir anticuerpos biespecíficos (ver, *por ej.*, Kostelny et al., *J. Immunol.*, 148(5):1547–1553 (1992)); empleando tecnología de “diacuerpos” para preparar fragmentos de anticuerpos biespecíficos (ver, *por ej.*,

15 Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444–6448 (1993)); y empleando dímeros de Fv de cadena única (sFv, por sus siglas en inglés) (ver, *por ej.* Gruber et al., *J. Immunol.*, 152:5368 (1994)); y preparando anticuerpos triespecíficos según lo descrito, *por ej.*, en Tutt et al. *J. Immunol.* 147: 60 (1991).

Los anticuerpos construidos por ingeniería genética con tres o más sitios

20 de unión al antígeno funcionales, incluyendo “anticuerpos Pulpo,” son también incluidos en esta invención (ver, *por ej.* US 2006/0025576A1).

El anticuerpo o fragmento en esta invención también incluye un “FAb de doble acción” o “DAF” que comprende un sitio de unión al antígeno que se une a

Tau así como también otro antígeno diferente (ver, US 2008/0069820, por

25 ejemplo).

7. Variantes de Anticuerpos

En ciertas realizaciones, se contemplan variantes de las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos proporcionados en esta invención. Por ejemplo, puede ser deseable mejorar la afinidad de unión y/u otras propiedades biológicas del anticuerpo. Las variantes de las secuencias de aminoácidos de un anticuerpo pueden ser preparadas introduciendo modificaciones apropiadas en la secuencia nucleotídica que codifica al anticuerpo, o por síntesis peptídica. Dichas modificaciones incluyen, por ejemplo, supresiones de, y/o inserciones en y/o sustituciones de residuos dentro de las secuencias de aminoácidos del anticuerpo. Puede realizarse cualquier combinación de supresión, inserción y sustitución para llegar a la construcción final, siempre y cuando la construcción final posea las características deseadas, *por ej.*, unión al antígeno.

a) Variantes de Sustitución, Inserción y Supresión

En ciertas realizaciones, se proveen variantes de anticuerpos que tienen una o más sustituciones de aminoácidos. Los sitios de interés para la mutagénesis sustitucional incluyen las HVRs y FRs. En la Tabla 1 se muestran sustituciones conservadoras bajo el encabezado “sustituciones preferidas”. Se provee cambios más sustanciales en la Tabla 1 bajo el encabezado “sustituciones ejemplares” y según lo descrito adicionalmente más adelante en referencia a las clases de cadenas laterales de aminoácidos. Pueden introducirse sustituciones de aminoácidos en un anticuerpo de interés y los productos pueden seleccionarse para determinar una actividad deseada, *por ej.*, unión al antígeno retenida/mejorada, inmunogenicidad reducida, o ADCC o CDC mejorada.

TABLA 1

Residuo Original	Sustituciones Ejemplares	Sustituciones Preferidas
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Norleucina	Leu
Leu (L)	Norleucina; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Norleucina	Leu

Los aminoácidos pueden ser agrupados de acuerdo con propiedades

5 comunes de cadenas laterales:

- (1) hidrófobos: Norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) hidrófilos neutros: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) ácidos: Asp, Glu;
- (4) básicos: His, Lys, Arg;

(5) residuos que influyen sobre la orientación de la cadena: Gly, Pro;

(6) aromáticos: Trp, Tyr, Phe.

Las sustituciones no conservadoras abarcarán el intercambio de un miembro de una de estas clases por otra clase.

5 Un tipo de variante sustitucional involucra sustituir uno o más residuos de región hipervariable de un anticuerpo parental (*por ej.* un anticuerpo humanizado o humano). En general, la o las variantes resultantes seleccionadas para posterior estudio tendrán modificaciones (*por ej.*, mejoras) en ciertas propiedades biológicas (*por ej.*, afinidad incrementada, inmunogenicidad reducida) con relación
10 al anticuerpo parental y/o habrán retenido sustancialmente ciertas propiedades biológicas del anticuerpo parental. Una variante sustitucional ejemplar es un anticuerpo madurado por afinidad, el cual puede ser generado convenientemente, *por ej.*, empleando técnicas de maduración por afinidad basadas en exhibición en fagos tales como aquellas descritas en esta invención. Brevemente, uno o más
15 residuos de HVR son mutados y los anticuerpos variantes son exhibidos en fago y seleccionados para determinar una actividad biológica en particular (*por ej.* afinidad de unión).

Pueden realizarse alteraciones (*por ej.*, sustituciones) en HVRs, *por ej.*, para mejorar la afinidad hacia el anticuerpo. Dichas alteraciones pueden ser
20 realizadas en “puntos calientes” (“hotspots”) de HVR, es decir, residuos codificados por codones que sufren mutación a elevada frecuencia durante el proceso de maduración somática (*ver, por ej.*, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179–196 (2008)), y/o residuos que contactan al antígeno, siendo analizada la variante VH o VL resultante para afinidad de unión. La maduración por afinidad
25 mediante la construcción y reselección a partir de genotecas secundarias ha sido descrita, *por ej.*, en Hoogenboom et al. en *Methods in Molecular Biology* 178:1–37 (O’Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001).) En algunas realizaciones

de maduración por afinidad, se introduce diversidad en los genes variables seleccionados para maduración mediante cualquiera de una variedad de métodos (por ej., PCR propensa al error, barajado de cadena, o mutagénesis dirigida a oligonucleótidos). Luego se crea una genoteca secundaria. Luego, la genoteca se
5 selecciona para identificar cualquier variante de anticuerpo con la afinidad deseada. Otro método para introducir diversidad involucra métodos dirigidos a HVR, en los cuales diversos residuos de HVR (por ej., 4–6 residuos por vez) son aleatorizados. Los residuos HVR involucrados en la unión al antígeno pueden ser específicamente identificados, por ej., usando mutagénesis de exploración con
10 alanina o modelado. CDR–H3 y CDR–L3 en particular son frecuentemente tomados como objetivo.

En ciertas realizaciones, pueden ocurrir sustituciones, inserciones o deleciones dentro de una o más HVRs siempre y cuando dichas alteraciones no reduzcan sustancialmente la capacidad del anticuerpo de unirse al antígeno. Por
15 ejemplo, se pueden realizar alteraciones conservadoras (por ej., sustituciones conservadoras según lo proporcionado en esta invención) en HVRs que no reducen sustancialmente la afinidad de unión. Dichas alteraciones pueden estar, por ejemplo, afuera de los residuos que contactan al antígeno en las HVRs. En ciertas realizaciones de las secuencias de VH y VL variantes proporcionadas
20 anteriormente, cada HVR está sin alterar, o no contiene más de uno, dos o tres sustituciones de aminoácidos.

Un método útil para la identificación de residuos o regiones de un anticuerpo que pueden ser tomados como objetivo para la mutagénesis se denomina “mutagénesis de exploración con alanina” según lo descrito por
25 Cunningham y Wells (1989) *Science*, 244:1081–1085. En este método, un residuo o grupo de residuos objetivos (por ej., residuos cargados tales como arg, asp, his, lys, y glu) son identificados y reemplazados por un aminoácido neutro o

con carga negativa (por ej., alanina o polialanina) para determinar si la interacción del anticuerpo con el antígeno se ve afectada. Se pueden introducir otras sustituciones en los lugares de aminoácidos que demuestran sensibilidad funcional a las sustituciones iniciales. Alternativamente, o adicionalmente, una estructura cristalina de un complejo antígeno – anticuerpo para identificar puntos de contacto entre el anticuerpo y el antígeno. Dichos residuos de contacto y residuos lindantes pueden ser tomados como objetivo o eliminados como candidatos para la sustitución. Pueden seleccionarse variantes para determinar si contienen las propiedades deseadas.

Las inserciones de secuencias de aminoácidos incluyen fusiones de terminal amino– y/o carboxilo que oscilan en longitud desde un residuo hasta polipéptidos que contienen cien residuos o más, así como también inserciones de intrasecuencias de residuos de aminoácido único o múltiples aminoácidos. Los ejemplos de inserciones terminales incluyen un anticuerpo con un residuo metionilo de terminal N. Otras variantes insercionales de la molécula de anticuerpo incluyen la fusión al término N o C del anticuerpo a una enzima (por ej. para ADEPT) o un polipéptido el cual aumenta la vida media sérica del anticuerpo.

b) Variantes de glicosilación

En ciertas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en esta invención es alterado para aumentar o reducir el grado hasta el cual el anticuerpo es glicosilado. La adición o deleción de sitios de glicosilación a un anticuerpo puede lograrse convenientemente alterando la secuencia de aminoácidos de modo que se crea o elimina uno o más sitios de glicosilación.

Donde el anticuerpo comprende una región Fc, se puede alterar el carbohidrato unido al mismo. Los anticuerpos nativos producidos por células de mamífero típicamente comprenden un oligosacárido ramificado, biantenarico que

está generalmente unido por una N–ligación a Asn297 del dominio CH2 de la región Fc. Ver, por ej., Wright et al. *TIBTECH* 15:26–32 (1997). El oligosacárido puede incluir diversos carbohidratos, por ej., manosa, N–acetil glucosamina (GlcNAc), galactosa, y ácido siálico, así como también una fucosa unida a un
5 GlcNAc en el “tallo” de la estructura de oligosacárido biantenaria. En algunas realizaciones, pueden realizarse modificaciones del oligosacárido en un anticuerpo de la invención a fin de crear variantes de anticuerpos con ciertas propiedades mejoradas.

En algunas realizaciones, se proporcionan variantes de anticuerpos que
10 tienen una estructura de carbohidrato que carece de fucosa unida (directa o indirectamente) a una región Fc. Por ejemplo, la cantidad de fucosa en dicho anticuerpo puede ser entre 1% y 80%, entre 1% y 65%, entre 5% y 65% o entre 20% y 40%. La cantidad de fucosa se determina calculando la cantidad promedio de fucosa dentro de la cadena de azúcar en Asn297, con relación a la suma de
15 todas las glicoestructuras unidas a Asn 297 (por ej. estructuras complejas, híbridas y de alto contenido de manosa) según lo medido por espectrometría de masas MALDI–TOF, según lo descrito en WO 2008/077546, por ejemplo. Asn297 se refiere al residuo asparagina situado en aproximadamente la posición 297 en la región Fc (numeración Eu de residuos de región Fc); sin embargo, Asn297
20 también puede estar situado aproximadamente ± 3 aminoácidos corriente arriba o corriente abajo de la posición 297, es decir, entre las posiciones 294 y 300, debido a variaciones menores de secuencias en los anticuerpos. Dichas variantes de fucosilación pueden tener una función mejorada de ADCC. Ver, por ej., Publicaciones de Patentes de Estados Unidos Nos. US 2003/0157108 (Presta,
25 L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Los ejemplos de publicaciones relacionadas con variantes de anticuerpos “desfucosilados” o “deficientes en fucosa” incluyen: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO

2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. *J. Mol. Biol.* 336:1239–1249
 5 (2004); Yamane–Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004). Los ejemplos de líneas celulares capaces de producir anticuerpos desfucosilados incluyen células Lec13 CHO deficientes en fucosilación proteica (Ripka et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533–545 (1986); Sol. de Pat. Estadounidense No US 2003/0157108 A1, Presta, L; y WO 2004/056312 A1, Adams et al., especialmente en el Ejemplo
 10 11), y líneas de células knockout, tales como gen de alfa–1,6–fucosiltransferasa, *FUT8*, células CHO anuladas (“knockout”) (ver, por ej., Yamane–Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680–688 (2006); y WO2003/085107).

Se proporcionan además variantes de anticuerpos con oligosacáridos
 15 bisecados, por ej., en las cuales un oligosacárido biantenarío unido a la región Fc del anticuerpo es biseccionado por GlcNAc. Dichas variantes de anticuerpos pueden tener fucosilación reducida y/o función de ADCC mejorada. Se describen ejemplos de dichas variantes de anticuerpos, por ej., en WO 2003/011878 (Jean–Mairet et al.); Patente de los Estados Unidos No. 6.602.684 (Umana et al.); y US
 20 2005/0123546 (Umana et al.). Se proporcionan además variantes de anticuerpos con por lo menos un residuo de galactosa en el oligosacárido unido a la región Fc. Dichas variantes de anticuerpos pueden tener una función CDC mejorada. Dichas variantes de anticuerpos son descritas, por ej., en WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); y WO 1999/22764 (Raju, S.).

c) Variantes de región Fc

En ciertas realizaciones, se pueden introducir una o más modificaciones de aminoácidos en la región Fc de un anticuerpo proporcionado en esta invención, generando así una variante de región Fc. La variante de región Fc puede comprender una secuencia de región Fc humana (*por ej.*, una región Fc de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana) que comprende una modificación de aminoácidos (por ej. una sustitución) en una o más posiciones de aminoácidos.

En ciertas realizaciones, la invención contempla una variante de anticuerpos que posee alguna, pero no todas las funciones efectoras, que la tornan un candidato deseable para aplicaciones en las cuales la vida media del anticuerpo *in vivo* es importante sin embargo ciertas funciones efectoras (tales como complemento y ADCC) son innecesarias o perjudiciales. Se pueden llevar a cabo ensayos de citotoxicidad *in vitro* y/o *in vivo* para confirmar la reducción/agotamiento de actividades de CDC y/o ADCC. Por ejemplo, se pueden llevar a cabo ensayos de unión al receptor de Fc (FcR) para asegurar que el anticuerpo carezca de unión al Fc γ R (por ende probablemente carezca de actividad de ADCC), pero retiene la capacidad de unión al FcRn. Las células primarias para mediar ADCC, células NK, expresan Fc γ RIII solamente, mientras que los monocitos expresan Fc γ RI, Fc γ RII y Fc γ RIII. La expresión de FcR en células hematopoyéticas se sintetiza en la Tabla 3 en la página 464 de Ravetch y Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457–492 (1991). Los ejemplos no limitativos de ensayos *in vitro* para evaluar la actividad de ADCC de una molécula de interés se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 5.500.362 (ver, por ej. Hellstrom, I. et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059–7063 (1986)) y Hellstrom, I et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499–1502 (1985); 5,821,337 (ver Bruggemann, M. et al., *J. Exp. Med.* 166:1351–1361 (1987)). Alternativamente, se pueden emplear métodos de ensayos no radiactivos (ver, por ejemplo, ACTI™ ensayo de

citotoxicidad no radiactiva para citometría de flujo (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA; y CytoTox 96® ensayo de citotoxicidad no radiactiva (Promega, Madison, WI). Las células efectoras útiles para dichos ensayos incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC, por sus siglas en inglés) y células

5 Asesinas Naturales (NK, por sus siglas en inglés). Alternativamente, o adicionalmente, la actividad de ADCC de la molécula de interés puede ser evaluada *in vivo*, por ej., en un modelo animal tal como aquel descrito en Clynes et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652–656 (1998). También pueden llevarse a cabo ensayos de unión a C1q para confirmar que el anticuerpo sea incapaz de

10 unirse a C1q y por ende carece de actividad de CDC. Ver, por ej., ELISA de unión a C1q y C3c en WO 2006/029879 y WO 2005/100402. Para evaluar la activación del complemento, se puede llevar a cabo un ensayo de CDC (ver, por ejemplo, Gazzano–Santoro et al., *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., *Blood* 101:1045–1052 (2003); y Cragg, M.S. y M.J. Glennie, *Blood* 103:2738–

15 2743 (2004)). También pueden llevarse a cabo determinaciones de unión a FcRn y de evacuación *in vivo* /vida media usando métodos conocidos en la técnica (ver, por ej., Petkova, S.B. et al., *Int'l. Immunol.* 18(12):1759–1769 (2006)).

Los anticuerpos con función efectora reducida incluyen aquellos con sustitución de uno o más de residuos de región Fc 238, 265, 269, 270, 297, 327 y

20 329 (Patente de los Estados Unidos No. 6.737.056). Dichos mutantes de Fc incluyen mutantes de Fc con sustituciones en dos o más de posiciones de aminoácidos 265, 269, 270, 297 y 327, incluyendo el denominado mutante de Fc “DANA” con sustitución de los residuos 265 y 297 a alanina (Patente de los Estados Unidos No. 7.332.581).

25 Se describen ciertas variantes de anticuerpos con unión mejorada o reducida a FcRs. (Ver, por ej., Patente de los Estados Unidos No. 6.737.056; WO 2004/056312, y Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591–6604 (2001).)

En ciertas realizaciones, una variante de anticuerpo comprende una región de Fc con una o más sustituciones de aminoácidos las cuales mejoran ADCC, por ej., sustituciones en las posiciones 298, 333, y/o 334 de la región de Fc (numeración EU de residuos).

- 5 En algunas realizaciones, se realizan alteraciones en la región de Fc que dan como resultado unión a C1q alterada (es decir, mejorada o reducida) y/o Citotoxicidad que Depende del Complemento (CDC), por ej., según lo descrito en la Patente de los Estados Unidos No. 6.194.551, WO 99/51642, y Idusogie et al. *J. Immunol.* 164: 4178–4184 (2000).

10

Los anticuerpos con vidas medias aumentadas e unión mejorada al receptor de Fc neonatal (FcRn), el cual es responsable de la transferencia de IgGs maternas al feto (Guyer et al., *J. Immunol.* 117:587 (1976) y Kim et al., *J. Immunol.* 24:249 (1994)), son descritos en US2005/0014934A1 (Hinton et al.).

- 15 Aquellos anticuerpos comprenden una región Fc con una o más sustituciones allí las cuales mejoran la unión de la región de Fc a FcRn. Dichas variantes de Fc incluyen aquellas con sustituciones en uno o más de los residuos de región Fc: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 o 434, por ej., sustitución de residuo de región Fc 434
20 (Patente de los Estados Unidos No. 7.371.826).

Ver también Duncan & Winter, *Nature* 322:738–40 (1988); Patente de los Estados Unidos No. 5.648.260; Patente de los Estados Unidos No. 5.624.821; y WO 94/29351 con respecto a otros ejemplos de variantes de región Fc.

- d) **Variantes de anticuerpos modificadas por técnicas de**
25 **ingeniería genética con cisteína**

En ciertas realizaciones, puede ser deseable crear anticuerpos modificados por técnicas de ingeniería genética con cisteína, por ej., “thioMAbs,” en donde uno

o más residuos de un anticuerpo son sustituidos con residuos cisteína. En realizaciones particulares, los residuos sustituidos ocurren en sitios accesibles del anticuerpo. Mediante la sustitución de esos residuos con cisteína, los grupos tiol reactivos son así posicionados en sitios accesibles del anticuerpo y pueden utilizarse para conjugar el anticuerpo a otros restos, tales como restos farmacológicos o restos farmacológicos ligantes, para crear un inmunoconjugado, según lo descrito adicionalmente en la presente invención. En ciertas realizaciones, cualquiera o más de los siguientes residuos puede ser sustituido con cisteína: V205 (numeración Kabat) de la cadena ligera; A118 (numeración EU) de la cadena pesada; y S400 (numeración EU) de la región de Fc de cadena pesada. Pueden generarse anticuerpos modificados con cisteína según lo descrito, por ej., en la Patente de los Estados Unidos No. 7.521.541.

e) Derivados de Anticuerpos

En ciertas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en esta invención puede ser adicionalmente modificado para contener restos no proteináceos adicionales que son conocidos en la técnica y están fácilmente disponibles. Los restos adecuados para derivación del anticuerpo incluyen aunque sin limitarse a polímeros hidrosolubles. Los ejemplos no limitativos de polímeros hidrosolubles incluyen, aunque sin limitarse a, polietilenglicol (PEG), copolímeros de etilenglicol /propilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, polivinil alcohol, polivinil pirrolidona, poli-1, 3-dioxolano, poli-1,3,6-trioxano, copolímero de etileno/anhídrido maleico, poliaminoácidos (ya sea homopolímeros o copolímeros al azar), y dextrano o poli(n-vinil pirrolidona)polietilenglicol, homopolímeros de propilenglicol, copolímeros de óxido de polipropileno / óxido de etileno, polioles polioxiethylados (por ej., glicerol), polivinil alcohol, y sus mezclas. El propionaldehído de polietilenglicol puede tener ventajas en la fabricación debido a su estabilidad en agua. El polímero puede ser de cualquier peso molecular, y puede ser ramificado

o no ramificado. La cantidad de polímeros unidos al anticuerpo puede variar, y si se unen más de un polímero, pueden ser moléculas iguales o diferentes. En general, la cantidad y/o tipo de polímeros empleados para la derivación pueden determinarse en base a consideraciones que incluyen, aunque sin limitarse a, las propiedades particulares o funciones del anticuerpo a ser mejorado, ya sea que el derivado del anticuerpo sea utilizado en una terapia bajo condiciones definidas, etc.

En otra realización, se proveen conjugados de un anticuerpo y resto no proteináceo que pueden calentarse selectivamente mediante la exposición a radiación. En algunas realizaciones, el resto no proteináceo es un nanotubo de carbono (Kam et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600–11605 (2005)). La radiación puede ser de cualquier longitud de onda, e incluye, aunque sin limitación, longitudes de onda que no dañan células comunes, pero que calientan el resto no proteináceo hasta una temperatura a la cual las células próximas al resto no proteináceo del anticuerpo son eliminadas.

B. Métodos Recombinantes y Composiciones

Los anticuerpos pueden ser producidos usando métodos recombinantes y composiciones, por ej., según lo descrito en la Patente de los Estados Unidos No. 4.816.567. En algunas realizaciones, se proporciona el ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo anti-Tau descrito en esta invención. Dicho ácido nucleico puede codificar una secuencia de aminoácidos que comprende la VL y/o una secuencia de aminoácidos que comprende la VH del anticuerpo (por ej., las cadenas ligera y/o pesada del anticuerpo). En una realización adicional, se proporcionan uno o más vectores (por ej., vectores de expresión) que comprenden dicho ácido nucleico. En una realización adicional, se proporciona una célula huésped que comprende dicho ácido nucleico. En una realización de ese tipo, una célula huésped comprende (*por ej.*, ha sido transformada con): (1)

un vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende la VL del anticuerpo y una secuencia de aminoácidos que comprende la VH del anticuerpo, o (2) un primer vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende la VL del anticuerpo y un segundo vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende la VH del anticuerpo. En algunas realizaciones, la célula huésped es eucariótica, por ej. una célula de Ovario de Hámster Chino (CHO, por sus siglas en inglés) o célula linfoide (por ej., célula Y0, NS0, Sp20). En algunas realizaciones, se proporciona un método para preparar un anticuerpo anti-Tau, donde el método comprende cultivar una célula huésped que comprende un ácido nucleico que codifica el anticuerpo, según lo proporcionado anteriormente, en condiciones adecuadas para la expresión del anticuerpo, y opcionalmente recuperar el anticuerpo de la célula huésped (o medio de cultivo de célula huésped).

Para la producción recombinante de un anticuerpo anti-Tau, el ácido nucleico que codifica un anticuerpo, por ej., según lo descrito con anterioridad en la presente, se aísla y se inserta en uno o más vectores para posterior clonación y/o expresión en una célula huésped. Dicho ácido nucleico puede ser fácilmente aislado y secuenciado usando procedimientos convencionales (por ej., usando sondas de oligonucleótidos que son capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas pesada y ligera del anticuerpo).

Las células huésped adecuadas para la clonación o expresión de vectores que codifican anticuerpos incluyen células procarióticas o eucarióticas descritas en esta invención. Por ejemplo, pueden producirse anticuerpos en bacterias, en particular cuando no son necesarias la glicosilación y función efectora de Fc. Para la expresión de fragmentos de anticuerpos y polipéptidos en bacterias, véase, por ej., las Patentes Estadounidenses Nos. 5.648.237, 5.789.199, y

5.840.523. (Ver también Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245–254, que describe la expresión de fragmentos de anticuerpos en *E. coli*.) Luego de la expresión, el anticuerpo puede ser aislado de la pasta celular bacteriana en una fracción soluble y puede ser adicionalmente purificado.

Además de procariotas, los microbios eucarióticos tales como los hongos filamentosos o levadura son huéspedes de clonación o expresión adecuados para vectores que codifican anticuerpos, incluyendo hongos y cepas de levaduras cuyas rutas de glicosilación han sido “humanizadas” dando como resultado la producción de un anticuerpo con un patrón de glicosilación parcial o totalmente humano. Ver Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409–1414 (2004), y Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210–215 (2006).

Las células huéspedes adecuadas para la expresión de anticuerpo glicosilado son también derivadas de organismos multicelulares (invertebrados y vertebrados). Los ejemplos de células de invertebrados incluyen células de planta e insecto. Se han identificado numerosas cepas baculovirales las cuales pueden utilizarse en conjunto con células de insecto, particularmente para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*.

Los cultivos de células de planta también pueden utilizarse como huéspedes. Ver, por ej., las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5.959.177, 6.040.498, 6.420.548, 7.125.978, y 6.417.429 (que describen la tecnología PLANTIBODIES™ para producir anticuerpos en plantas transgénicas).

También pueden utilizarse células de vertebrados como huéspedes. Por ejemplo, las líneas de células de mamífero que se adaptan para crecer en suspensión pueden ser útiles. Otros ejemplos de líneas de células huéspedes de mamífero útiles son la línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS–7); la línea de riñón embrionario humano (células 293 o 293 según lo descrito, por

ej., en Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)); células de riñón de hámster bebé (BHK); células sertoli de ratón (células TM4 según lo descrito, por ej., en Mather, *Biol. Reprod.* 23:243–251 (1980)); células de riñón de mono (CV1); células de riñón de mono verde africano (VERO–76); células de carcinoma cervical humanas (HELA); células de riñón caninas (MDCK; células de hígado de rata búfalo (BRL 3A); células de pulmón humanas (W138); células de hígado humanas (Hep G2); tumor mamario de ratón (MMT 060562); células TRI, según lo descrito, por ej., en Mather et al., *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44–68 (1982); células MRC 5; y células FS4. Otras líneas de células huéspedes de mamífero útiles incluyen células de ovario de hámster chino (CHO), incluyendo células DHFR⁻ CHO (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); y líneas celulares de mieloma tales como Y0, NS0 y Sp2/0. Para una reseña de ciertas líneas de células huéspedes de mamífero adecuadas para la producción de anticuerpos, véase, por ej., Yazaki y Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255–268 (2003).

C. Ensayos

Los anticuerpos anti–Tau proporcionados en esta invención pueden ser identificados, seleccionados, o caracterizados por sus propiedades físico/químicas y/ o por sus actividades biológicas mediante diversos ensayos conocidos en la técnica.

1. Ensayos de unión y otros ensayos

En un aspecto, un anticuerpo de la invención se analiza para determinar su actividad de unión al antígeno, por ej., mediante métodos conocidos tales como ELISA, Western blot, etc.

En otro aspecto, pueden emplearse ensayos de competición para identificar un anticuerpo que compite con un anticuerpo descrito en la presente invención por la unión a Tau. En ciertas realizaciones, dicho anticuerpo competidor se une al mismo epítipo (por ej., un epítipo lineal o un epítipo conformacional) que es unido por 94B2–C1, 125B11–H3, 37D3–H9, o hu37D3–H9.v28.A4. Los métodos ejemplificativos detallados para el mapeo de un epítipo al cual se une un anticuerpo son proporcionados en Morris (1996) “Epitope Mapping Protocols,” en *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

En un ensayo de competición ejemplificativo, se incubaba Tau inmovilizada (tal como Tau monomérica) en una solución que comprende un primer anticuerpo rotulado que se une a Tau (por ej., cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente, tal como hu37D3–H9.v28.A4) y un segundo anticuerpo no rotulado que está siendo ensayado para determinar su capacidad para competir con el primer anticuerpo para la unión a Tau. El segundo anticuerpo puede estar presente en un sobrenadante de hibridoma. Como control, Tau inmovilizada se incubaba en una solución que comprende el primer anticuerpo rotulado pero no el segundo anticuerpo no rotulado. Luego de la incubación bajo condiciones que permiten la unión del primer anticuerpo a Tau, se elimina el exceso de anticuerpo no unido, y se mide la cantidad de rótulo asociado con Tau inmovilizada. Si la cantidad de rótulo asociada con Tau inmovilizada es sustancialmente reducida en la muestra de ensayo con relación a la muestra control, entonces eso indica que el segundo anticuerpo está compitiendo con el primer anticuerpo por la unión a Tau. Ver Harlow y Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* cap. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

2. Ensayos de actividad

En un aspecto, se proporcionan ensayos para identificar anticuerpos anti-Tau (por ej., pan-Tau) que tienen una actividad biológica. La actividad biológica puede incluir, por ej., la unión de tales anticuerpos a formas múltiples de Tau (por ej., Tau monomérica, Tau oligomérica, Tau no fosforilada, y Tau fosforilada) y reducir el nivel de proteína Tau (por ej., Tau total, Tau soluble total, Tau soluble no fosforilada, Tau fosforilada soluble, Tau insoluble total, Tau no fosforilada insoluble, Tau fosforilada insoluble, Tau hiperfosforilada, o filamentos helicoidales apareados que contienen Tau hiperfosforilada en el cerebro, por ej., en la corteza cerebral y/o en el hipocampo). También se proporcionan anticuerpos que tienen dicha actividad biológica *in vivo* y/o *in vitro*.

En ciertas realizaciones, se analiza un anticuerpo de la invención para dicha actividad biológica. Por ejemplo, un modelo animal de tauopatía, tal como un ratón transgénico Tau (*por ej.*, P301L), puede utilizarse para detectar la unión de anticuerpos anti-Tau a secciones del cerebro, y por ejemplo, a ovillos neurofibrilares en los cerebros de los ratones transgénicos. Adicionalmente, se puede tratar un modelo animal de tauopatía, tal como un ratón transgénico Tau (*por ej.*, P301L), con anticuerpos anti-Tau y se pueden utilizar técnicas experimentales conocidas en la técnica para evaluar si dicho tratamiento reduce el nivel de proteína Tau (*por ej.*, Tau total, Tau soluble total, Tau fosforilada soluble, Tau no fosforilada soluble, Tau insoluble total, Tau fosforilada insoluble, Tau no fosforilada insoluble, Tau hiperfosforilada, o filamentos helicoidales apareados que contienen Tau hiperfosforilada) en el cerebro del ratón (*por ej.*, en la corteza cerebral y/o en el hipocampo).

D. Inmunokonjugados

La invención provee además inmunokonjugados que comprende un anticuerpo anti-Tau en la presente invención conjugado a uno o más otros agentes terapéuticos o isotipos radiactivos.

5 En otra realización, un inmunokonjugado comprende un anticuerpo según lo descrito en la presente conjugado a un átomo radiactivo para formar un radioconjugado. Se encuentra disponible una variedad de isótopos radiactivos para la producción de radioconjugados. Los ejemplos incluyen At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} e isótopos radioactivos de Lu. Cuando se
10 utiliza el radioconjugado para la detección, el mismo puede comprender un átomo radiactivo para estudios centellográficos, por ejemplo tc99m o I^{123} , o una etiqueta espín para la toma de imágenes por resonancia magnética nuclear (RMN) (también se conoce como toma de imágenes por resonancia magnética, mri, por sus siglas en inglés), tales como yodo-123 nuevamente, yodo-131, indio-111,
15 flúor-19, carbono-13, nitrógeno-15, oxígeno-17, gadolinio, manganeso o hierro.

Los conjugados de un anticuerpo pueden ser preparados empleando una variedad de agentes de acoplamiento de proteínas bifuncionales tales como N-succinimidil-3-(2-piridilditio) propionato (SPDP), succinimidil-4-(N-maleimidometil) ciclohexano-1-carboxilato (SMCC), iminotiolano (IT), derivados
20 bifuncionales de imidoésteres (tales como dimetil adipimidato HCl), ésteres activos (tales como disuccinimidil suberato), aldehídos (tales como glutaraldehído), compuestos bis-azido (tales como bis (p-azidobenzoil) hexanodiamina), derivados de bis-diazonio (tales como bis-(p-diazoniumbenzoil)-etilendiamina), diisocianatos (tales como tolueno 2,6-
25 diisocianato), y compuestos de flúor bis-activos (tales como 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenceno). Por ejemplo, se puede preparar una inmunotoxina de ricina según lo descrito en Vitetta et al., *Science* 238:1098 (1987). El ácido 1-

isotiocianatobencil-3-metildietilen-triaminapentaacético rotulado con carbono 14 (MX-DTPA) es un agente quelante ejemplar para la conjugación de radionucleótido al anticuerpo. Ver WO94/11026. El ligante puede ser un “ligante disociable” que facilita la liberación de un fármaco citotóxico en la célula. Por ejemplo, se puede emplear un ligante lábil al ácido, ligante sensible a peptidasa, 5 ligante fotolábil, ligante de dimetilo o ligante que contiene disulfuro (Chari et al., *Cancer Res.* 52:127–131 (1992); Patente de los Estados Unidos de América No. 5.208.020).

Los inmunoconjugados o ADCs en la presente contemplan de manera expresa, meramente a título enunciativo, los conjugados preparados con reactivos 10 entrecruzadores incluyendo, entre otros, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC, y sulfo-SMPB, y SVSB (succinimidil-(4-vinilsulfona)benzoato) los cuales son comercialmente 15 disponibles (*por ej.*, de Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., E.E.U.U.).

E. Métodos y Composiciones para Diagnóstico y Detección

En ciertas realizaciones, cualquiera de los anticuerpos anti-Tau proporcionados en esta invención es útil para detectar la presencia de Tau en una muestra biológica. El término “detectar” en el presente contexto abarca la 20 detección cuantitativa o cualitativa. En ciertas realizaciones, una muestra biológica comprende una célula o tejido, tal como fluido cerebroespinal, una célula o tejido del cerebro (por ej. la corteza cerebral o el hipocampo) o sangre. En algunas realizaciones, una muestra biológica es fluido cerebroespinal.

En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo anti-Tau para 25 utilizar en un método de diagnóstico o detección. En un aspecto adicional, se proporciona un método para detectar la presencia de Tau en una muestra biológica. En ciertas realizaciones, el método comprende poner en contacto la

muestra biológica con un anticuerpo anti-Tau según lo descrito en esta invención bajo condiciones que permiten la unión del anticuerpo anti-Tau a Tau, y detectar si se forma un complejo o no entre el anticuerpo anti-Tau y Tau. Dicho método puede ser un método *in vitro* o *in vivo*. Adicionalmente, el complejo formado entre el anticuerpo anti-Tau y Tau en una muestra biológica de ensayo se puede comparar con el complejo formado en una muestra biológica control (por ej. una muestra biológica de un sujeto o sujetos sanos). La cantidad del complejo formado entre el anticuerpo anti-Tau y Tau en una muestra biológica de ensayo también puede ser cuantificada y comparada con la cantidad del complejo formado en una muestra biológica control (por ej., una muestra biológica de un sujeto o sujetos sanos) o con la cantidad promedio del complejo que se sabe que se forma en sujetos sanos.

En algunas realizaciones, se emplea un anticuerpo anti-Tau para seleccionar sujetos elegibles para terapia con un anticuerpo anti-Tau, *por ej.* donde Tau es un biomarcador para la selección de los pacientes. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se emplea un anticuerpo anti-Tau (por ej., pan-Tau) para detectar si el sujeto tiene una enfermedad o trastorno relacionado con la proteína Tau, o si el sujeto corre un riesgo elevado de contraer (o está predispuesto a contraer) una enfermedad o trastorno relacionado con la proteína Tau.

Los ejemplos de enfermedades o trastornos que pueden ser diagnosticados empleando un anticuerpo de la invención incluyen enfermedades o trastornos asociados con la proteína Tau, y enfermedades o trastornos causados por, o asociados a, la formación de ovillos neurofibrilares o hilos del neurópilo. En algunas realizaciones, las enfermedades o trastornos que pueden ser diagnosticados empleando un anticuerpo de la invención incluyen enfermedades o trastornos asociados con la proteína Tau que se manifiestan en un deterioro o pérdida de las funciones cognitivas que incluyen el razonamiento,

el criterio situacional, capacidad de memoria, aprendizaje y/o navegación espacial. En particular, las enfermedades o trastornos que pueden ser diagnosticados empleando un anticuerpo de la invención incluyen tauopatías tales como tauopatías neurodegenerativas. Los ejemplos de enfermedades o trastornos

5 que pueden ser diagnosticados empleando un anticuerpo de la invención incluyen, meramente a título enunciativo, enfermedad de Alzheimer, Enfermedad de Creutzfeldt–Jacob, Demencia pugilística, Síndrome de Down, Enfermedad de Gerstmann–Sträussler–Scheinker, miositis por cuerpos de inclusión, angiopatía amiloide cerebral por proteínas priónicas, lesión cerebral traumática, esclerosis

10 lateral amiotrófica/complejo parkinsonismo–demencia de Guam, Enfermedad de las neuronas motoras no de Guam con ovillos neurofibrilares, demencia con granos argirofílicos, degeneración corticobasal, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, demencia frontotemporal, demencia frontotemporal con parkinsonismo vinculada con el cromosoma 17, Enfermedad de Hallevorden–

15 Spatz, atrofia sistémica múltiple, Enfermedad de Niemann–Pick tipo C, Degeneración Palido–ponto–nigral, Enfermedad de Pick, gliosis subcortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva, Panencefalitis esclerosante subaguda, Demencia con ovillos solamente, Parkinsonismo Posencefalítico y distrofia miotónica. En algunas realizaciones, un trastorno que puede ser

20 diagnosticado empleando un anticuerpo de la invención es la enfermedad de Alzheimer (EA).

En ciertas realizaciones, se proveen anticuerpo anti–Tau etiquetados. Las etiquetas incluyen, aunque sin limitarse a, etiquetas o restos que se detectan directamente (tales como etiquetas fluorescentes, cromofóricas, densas en

25 electrones, quimioluminiscentes y radiactivas), así como también restos, tales como enzimas o ligandos, que se detectan indirectamente, por ej., a través de una reacción enzimática o interacción molecular. Los ejemplos de etiquetas incluyen,

aunque sin limitarse a, los radioisótopos ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H , y ^{131}I , fluoróforos tales como quelatos de tierras raras o fluoresceína y sus derivados, rodamina y sus derivados, dansilo, umbeliferona, luciferinas, por ej., luciferasa de luciérnaga y luciferasa bacteriana (Patente de los Estados Unidos No. 4.737.456), luciferina, 5 2,3-dihidroftalazinadionas, peroxidasa de rábano picante (HRP, por sus siglas en inglés), fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, glucoamilasa, lisozima, sacárido oxidasas, por ej., glucosa oxidasa, galactosa oxidasa, y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, oxidasas heterocíclicas tales como uricasa y xantina oxidasa, acopladas con una enzima que emplea peróxido de hidrógeno para oxidar un precursor de tinte tal como HRP, lactoperoxidasa, o microperoxidasa, 10 biotina/avidina, etiquetas espín, etiquetas de bacteriófago, radicales libres estables y similares.

F. Formulaciones Farmacéuticas

Las formulaciones farmacéuticas de un anticuerpo anti-Tau según lo 15 descrito en esta invención se preparan mezclando dicho anticuerpo que tiene el grado deseado de pureza con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables opcionales, diluyentes, y/o excipientes (*Remington's Pharmaceutical Sciences* 16ta edición, Osol, A. Ed. (1980)), en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los portadores, diluyentes y excipientes 20 farmacéuticamente aceptables son generalmente no tóxicos para los destinatarios a las dosificaciones y concentraciones empleadas, e incluyen, aunque sin limitarse a: agua estéril, buffers tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencil amonio; cloruro de hexametonio; 25 cloruro de benzalconio; cloruro de benzetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquil parabenos tales como metil o propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular

(menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como seroalbúmina, gelatina, o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina, o lisina; monosacáridos, disacáridos, y otros carbohidratos que incluyen glucosa, manosa, o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; complejos metálicos (*por ej.* complejos de Zn–proteína); y/o surfactantes no iónicos tales como polietilenglicol (PEG). Los portadores farmacéuticamente aceptables ejemplares de esta invención incluyen además agentes de dispersión de fármacos intersticiales tales como glicoproteínas de hialuronidasa activas neutras solubles (sHASEGP, por sus siglas en inglés), por ejemplo, glicoproteínas de hialuronidasa PH-20 solubles humanas, tales como rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.). Ciertas sHASEGPs ejemplares y métodos de uso, incluyendo rHuPH20, son descritos en la Publicación de Patente de los Estados Unidos Nos. 2005/0260186 y 2006/0104968. En un aspecto, se combina una sHASEGP con una o más glicosaminoglicanasas adicionales tales como condroitinasas.

Las formulaciones de anticuerpos liofilizados ejemplares se describen en la Patente de los Estados Unidos No. 6.267.958. Las formulaciones de anticuerpos acuosas incluyen aquellas descritas en la Patente de los Estados Unidos No. 6.171.586 y WO2006/044908, incluyendo estas últimas formulaciones un buffer de histidina- acetato.

La formulación de esta invención también puede contener más de un ingrediente activo según lo necesario para la indicación en particular que se está tratando, con preferencia aquellos con actividades complementarias que no afectan adversamente uno al otro. Dichos ingredientes activos están

adecuadamente presentes en combinación en cantidades que son eficaces para el propósito pretendido.

Los ingredientes activos pueden estar atrapados en microcápsulas preparadas, por ejemplo, por técnicas de coacervación o mediante polimerización interfacial, por ejemplo, hidroximetilcelulosa o microcápsulas de gelatina y microcápsulas de poli-(metilmetacrilato), respectivamente, en sistemas de administración de fármaco coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nano-partículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Dichas técnicas son descritas en *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16ta edición, Osol, A. Ed. (1980).

Se pueden preparar preparaciones de liberación sostenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el anticuerpo, matrices que están en forma de artículos conformados, *por ej.* películas o microcápsulas.

Las formulaciones que se utilizarán para la administración *in vivo* son generalmente estériles. La esterilidad pueden lograrse fácilmente, por ej., por filtración a través de membranas de filtración estériles.

G. Métodos Terapéuticos y Composiciones

Se puede emplear cualquiera de los anticuerpos anti-Tau proporcionados en esta invención en métodos terapéuticos.

En un aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-Tau para utilizar como un medicamento. En aspectos adicionales, se provee un anticuerpo anti-Tau para utilizar en el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau. En algunas realizaciones, se provee un anticuerpo anti-Tau para utilizar en el tratamiento de enfermedades o trastornos causados por, o asociados con, la formación de ovillos neurofibrilares o hilos del neurópilo. En realizaciones

particulares, se provee un anticuerpo anti-Tau para utilizar en el tratamiento de una tauopatía tal como una tauopatía neurodegenerativa. Los ejemplos de enfermedades o trastornos asociados con la proteína Tau que se pueden tratar con anticuerpos anti-tau incluyen, meramente a título enunciativo, la enfermedad

5 de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Creutzfeldt-Jacob, demencia pugilística, síndrome de Down, enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, miositis por cuerpos de inclusión, angiopatía amiloide cerebral por proteínas priónicas, lesión cerebral traumática, esclerosis lateral amiotrófica/complejo parkinsonismo-demencia de

10 Guam, enfermedad de las neuronas motoras no de Guam con ovillos neurofibrilares, demencia con granos argirofílicos, degeneración corticobasal, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, demencia frontotemporal, demencia frontotemporal con parkinsonismo vinculada con el cromosoma 17, enfermedad de Hallevorden-Spatz, atrofia sistémica múltiple, enfermedad de

15 Niemann-Pick tipo C, degeneración Palido-ponto-nigral, enfermedad de Pick, gliosis subcortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva, panencefalitis esclerosante subaguda, demencia con ovillos solamente, Parkinsonismo Posencefálico y distrofia miotónica. En algunas realizaciones, se provee en la presente invención un anticuerpo anti-Tau para utilizar en el tratamiento de la

20 enfermedad de Alzheimer (EA). En algunas realizaciones, se provee en la presente un anticuerpo anti-Tau para utilizar en el tratamiento de la EA moderada, EA leve a moderada, EA leve, o EA prodrómica. Adicionalmente, las enfermedades o trastornos asociados con la proteína Tau que se pueden tratar con un anticuerpo anti-Tau incluyen enfermedades o trastornos que se

25 manifiestan en un deterioro o pérdida de una función cognitiva tales como el razonamiento, el criterio situacional, capacidad de memoria, aprendizaje y/o la navegación espacial. En ciertas realizaciones, se provee un anticuerpo anti-Tau

para utilizar en un método de tratamiento. En ciertas realizaciones, la invención proporciona un anticuerpo anti-Tau para emplear en un método para tratar a un individuo, que tiene cualquiera de las enfermedades o trastornos asociados con Tau descritos con anterioridad, que comprende la administración al individuo de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-Tau. En una realización de ese tipo, el método comprende además administrar al individuo una cantidad eficaz de por lo menos un agente terapéutico adicional, *por ej.*, según lo descrito más adelante.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de la invención se utiliza para tratar a un individuo que tiene una puntuación de MMSE de entre 20 y 30, entre 20 y 26, entre 24 y 30, entre 21 y 26, entre 22 y 26, entre 22 y 28, entre 23 y 26, entre 24 y 26, o entre 25 y 26. En algunas realizaciones, el paciente tiene una puntuación de MMSE entre 22 y 26. En el presente contexto, una puntuación de MMSE entre dos números incluye los números en cada extremo del rango. Por ejemplo, una puntuación de MMSE entre 22 y 26 incluye puntuaciones de MMSE de 22 y 26.

En algunas realizaciones, los anticuerpos de la invención se utilizan para tratar a un individuo que es 'tau positivo,' *por ej.*, un paciente que tiene depósitos de tau en cerebro que son típicos de los trastornos asociados con la proteína Tau, *por ej.*, un paciente que tiene un barrido de PET Tau positivo.

En realizaciones adicionales, la invención proporciona un anticuerpo anti-Tau para emplear en la reducción de los niveles de proteína Tau (*por ej.*, Tau total, Tau soluble total, Tau fosforilada soluble, Tau insoluble total, Tau fosforilada insoluble, Tau hiperfosforilada, o filamentos helicoidales apareados que contienen Tau hiperfosforilada) en un individuo. Por ejemplo dicha reducción puede ocurrir en el cerebro (*por ej.*, en la corteza cerebral y/o en el hipocampo). En algunas realizaciones, la invención proporciona un anticuerpo anti-Tau para emplear en la reducción de los niveles de Tau fosforilada. En algunas realizaciones, la invención proporciona un anticuerpo anti-Tau para emplear en la reducción de los

niveles de Tau insoluble (*por ej.*, Tau fosforilada insoluble). En algunas realizaciones, la invención proporciona un anticuerpo anti-Tau para emplear en la reducción de los niveles de Tau hiperfosforilada. En algunas realizaciones, la invención proporciona un anticuerpo anti-Tau para emplear en la reducción de los

5 niveles de filamentos helicoidales apareados (*por ej.*, filamentos helicoidales apareados que contienen Tau hiperfosforilada) en un tejido cerebral (*por ej.*, en la corteza cerebral y/o en el hipocampo). En ciertas realizaciones, la invención proporciona un anticuerpo anti-Tau para utilizar en un método para reducir los niveles de proteína Tau (*por ej.*, Tau total, Tau soluble total, Tau fosforilada

10 soluble, Tau insoluble total, Tau fosforilada insoluble, Tau hiperfosforilada, o filamentos helicoidales apareados que contienen Tau hiperfosforilada) en el cerebro (*por ej.*, en la corteza cerebral y/o en el hipocampo) en un individuo que comprende la administración al individuo de una cantidad eficaz del anticuerpo anti-Tau para reducir los niveles de proteína Tau. Un “individuo” de acuerdo con

15 cualquiera de las realizaciones anteriores es un mamífero, preferentemente un ser humano.

En algunas realizaciones, la invención proporciona un anticuerpo anti-Tau para utilizar en la modulación de los niveles de proteína Tau (*por ej.*, Tau total, Tau soluble total, Tau fosforilada soluble, Tau insoluble total, Tau fosforilada

20 insoluble, Tau hiperfosforilada, o filamentos helicoidales apareados que contienen Tau hiperfosforilada), por ejemplo, en el cerebro (*por ej.*, en la corteza cerebral y/o en el hipocampo) de un individuo.

En un aspecto adicional, la invención proporciona el uso de un anticuerpo anti-Tau en la manufactura o preparación de un medicamento. En algunas

25 realizaciones, el medicamento es para el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau. La enfermedad o trastorno asociado con proteína Tau puede ser una enfermedad o trastorno causado por, o asociado con,

la formación de ovillos neurofibrilares o hilos del neurópilo. En realizaciones particulares, el medicamento es para el tratamiento de una tauopatía tal como una tauopatía neurodegenerativa. En realizaciones específicas, el medicamento es para el tratamiento de enfermedades o trastornos seleccionados del grupo

5 formado por: enfermedad de Alzheimer (AD), enfermedad de Creutzfeldt–Jacob, demencia pugilística, síndrome de Down, enfermedad de Gerstmann–Sträussler–Scheinker, miositis por cuerpos de inclusión, angiopatía amiloide cerebral por proteínas priónicas, lesión cerebral traumática, esclerosis lateral

10 amiotrófica/complejo parkinsonismo–demencia de Guam, enfermedad de las neuronas motoras no de Guam con ovillos neurofibrilares, demencia con granos argirofílicos, degeneración corticobasal, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, demencia frontotemporal, demencia frontotemporal con parkinsonismo vinculada con el cromosoma 17, enfermedad de Hallevorden–Spatz, atrofia sistémica múltiple, enfermedad de Niemann–Pick tipo C,

15 degeneración Palido–ponto–nigral, enfermedad de Pick, gliosis subcortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva, Panencefalitis esclerosante subaguda, demencia con ovillos solamente, Parkinsonismo Posencefalítico y distrofia miotónica. En algunas realizaciones, el medicamento es para el tratamiento de la EA. En realizaciones particulares, el medicamento es para el

20 tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado con Tau que se manifiesta en un deterioro o pérdida de una función cognitiva tales como razonamiento, criterio situacional, capacidad de la memoria, aprendizaje, o navegación espacial. En una realización adicional, el medicamento es para utilizar en un método de tratamiento de una de las enfermedades antes mencionadas (*por ej.*, una

25 tauopatía tal como EA) que comprende la administración a un individuo que tiene dicha enfermedad de una cantidad eficaz del medicamento. En una realización de ese tipo, el método comprende además la administración al individuo de una

cantidad eficaz de por lo menos un agente terapéutico adicional, *por ej.*, según lo descrito más adelante.

En una realización adicional, el medicamento es para reducir los niveles de proteína Tau (*por ej.*, Tau total, Tau soluble total, Tau no fosforilada soluble, Tau fosforilada soluble, Tau insoluble total, Tau fosforilada insoluble, Tau no fosforilada insoluble, Tau hiperfosforilada, o filamentos helicoidales apareados que contienen Tau hiperfosforilada). Por ejemplo, dicha reducción de proteína Tau puede ser observada en el cerebro (*por ej.*, en la corteza cerebral y/o en el hipocampo) o en fluido cerebroespinal de un individuo. En algunas realizaciones, el medicamento es para reducir los niveles de filamentos helicoidales apareados. En una realización adicional, el medicamento es para utilizar en un método para reducir los niveles de proteína Tau (*por ej.*, Tau total, Tau soluble total, Tau fosforilada soluble, Tau insoluble total, Tau fosforilada insoluble, Tau hiperfosforilada, o filamentos helicoidales apareados que contienen Tau hiperfosforilada) en un individuo que comprende la administración al individuo de una cantidad eficaz del medicamento para reducir los niveles de proteína Tau. Un “individuo” de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores es un mamífero, preferentemente, un humano.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un método para tratar una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau. La enfermedad o trastorno asociado con proteína Tau que se puede tratar de conformidad con los métodos proporcionados en esta invención incluyen enfermedades o trastornos causados por, o asociados con, la formación de ovillos neurofibrilares o hilos del neurópilo. En realizaciones particulares, la invención proporciona un método para tratar una tauopatía tal como una tauopatía neurodegenerativa. En realizaciones específicas, la invención proporciona un método para tratar una enfermedad o trastorno seleccionado del grupo formado por: enfermedad de Alzheimer,

enfermedad de Creutzfeldt–Jacob, Demencia pugilística, Síndrome de Down,
 enfermedad de Gerstmann–Sträussler–Scheinker, miositis por cuerpos de
 inclusión, angiopatía amiloide cerebral por proteínas priónicas, lesión cerebral
 traumática, esclerosis lateral amiotrófica/complejo parkinsonismo–demencia de
 5 Guam, enfermedad de las neuronas motoras no de Guam con ovillos
 neurofibrilares, demencia con granos argirofílicos, degeneración corticobasal,
 ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, demencia frontotemporal,
 demencia frontotemporal con parkinsonismo vinculada con el cromosoma 17,
 enfermedad de Hallevorden–Spatz, atrofia sistémica múltiple, enfermedad de
 10 Niemann–Pick tipo C, Degeneración Palido–ponto–nigral, enfermedad de Pick,
 gliosis subcortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva, panencefalitis
 esclerosante subaguda, demencia con ovillos solamente, Parkinsonismo
 Posencefálico y distrofia miotónica. En algunas realizaciones, la invención
 proporciona un método para tratar la enfermedad de Alzheimer (EA). En
 15 realizaciones particulares, la invención proporciona un método para tratar una
 enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau que se manifiesta en un
 deterioro o pérdida de una función cognitiva tales como razonamiento, criterio
 situacional, capacidad de la memoria, aprendizaje, o navegación espacial. En
 algunas realizaciones, el método comprende la administración a un individuo, que
 20 tiene una cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos anteriormente, de
 una cantidad eficaz de un anticuerpo anti–Tau. En una realización de ese tipo, el
 método comprende además administrar al individuo una cantidad eficaz de por lo
 menos un agente terapéutico adicional, *por ej.*, según lo descrito más adelante.
 En algunas realizaciones, el método comprende la administración a un individuo
 25 que tiene una de las enfermedades descritas en esta invención de una cantidad
 eficaz de un anticuerpo anti–Tau. En una realización de ese tipo, el método
 comprende además administrar al individuo una cantidad eficaz de por lo menos

un agente terapéutico adicional, según lo descrito más adelante. Un “individuo” de acuerdo con cualquiera de las realizaciones antes mencionadas puede ser un humano.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un método para reducir
5 los niveles de proteína Tau (*por ej.*, Tau total, Tau soluble total, Tau fosforilada soluble, Tau insoluble total, Tau fosforilada insoluble, Tau hiperfosforilada, o filamentos helicoidales apareados que contienen Tau hiperfosforilada) en un individuo. Por ejemplo, dicha reducción de los niveles de proteína Tau se puede observar en el cerebro (*por ej.*, en la corteza cerebral y/o en el hipocampo) o en el
10 fluido cerebroespinal de un individuo. En algunas realizaciones, la invención proporciona un método para reducir los niveles de filamentos helicoidales apareados. En algunas realizaciones, el método comprende la administración al individuo de una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tau para reducir los niveles de proteína Tau. En algunas realizaciones, un “individuo” es un humano.

15 En algunos aspectos, la invención proporciona un método para aliviar uno o más síntomas de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau; o un anticuerpo anti-Tau o un medicamento que comprende anticuerpo anti-Tau para el alivio de uno o más síntomas de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau (tal como cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos
20 en esta invención, por ejemplo, la EA). En algunos aspectos, la invención proporciona un método para reducir la cantidad de síntomas o la severidad de uno o más síntomas de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau; o un anticuerpo anti-Tau o un medicamento que comprende anticuerpo anti-Tau para reducir la cantidad de síntomas o la severidad de uno o más síntomas de
25 una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau (tal como cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos en la presente invención, por ejemplo, EA). En una realización particular, el síntoma de una enfermedad o trastorno

asociado con la proteína Tau es un deterioro de la cognición. En una realización específica, el síntoma de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau es un deterioro en el aprendizaje y/o en la memoria. En una realización específica, el síntoma de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína

5 Tau es una pérdida de memoria de largo plazo. En una realización específica, el síntoma de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau es la demencia. En algunas realizaciones, el síntoma de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau es confusión, irritabilidad, agresión, cambios de ánimo, o un deterioro del lenguaje. En algunas realizaciones, el síntoma de una

10 enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau es un deterioro o pérdida de una o más funciones cognitivas tales como el razonamiento, el criterio situacional, capacidad de memoria y/o aprendizaje. Los métodos proporcionados en la presente invención comprenden la administración de una cantidad (*por ej.*, cantidad terapéuticamente eficaz) de un anticuerpo anti-Tau a un individuo (*por*

15 *ej.*, quien muestra uno o más síntomas de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau).

En aspectos específicos, la invención proporciona un método para retener o aumentar la capacidad de la memoria cognitiva, o para desacelerar la pérdida de memoria asociada con una enfermedad o trastorno asociado con la proteína

20 Tau; o un anticuerpo anti-Tau o un medicamento que comprende anticuerpo anti-Tau para retener o aumentar la capacidad de la memoria cognitiva o para desacelerar la pérdida de la memoria asociada con una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau (tal como cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos en la presente invención, por ejemplo, EA). Los métodos

25 proporcionados en esta invención comprenden la administración de una cantidad (*por ej.*, una cantidad terapéuticamente eficaz) de un anticuerpo anti-Tau a un

individuo (*por ej.*, que muestra uno o más síntomas de pérdida de la memoria o disminución de la capacidad de memoria).

En algunos aspectos, la invención proporciona un método para reducir la velocidad de progresión de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau; o un anticuerpo anti-Tau o un medicamento que comprende anticuerpo anti-Tau para disminuir la velocidad de progresión de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau (tal como cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos en la presente invención, por ejemplo, la EA). Los métodos proporcionados en esta invención comprenden la administración de una cantidad (*por ej.*, una cantidad terapéuticamente eficaz) de un anticuerpo anti-Tau a un individuo (*por ej.*, quien muestra uno o más síntomas de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau).

En algunos aspectos, la invención proporciona un método para evitar el desarrollo de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau; o un anticuerpo anti-Tau o un medicamento que comprende anticuerpo anti-Tau para evitar el desarrollo de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau (tal como cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos en la presente invención, por ejemplo, EA). Los métodos proporcionados en esta invención comprenden la administración de una cantidad (*por ej.*, una cantidad terapéuticamente eficaz) de un anticuerpo anti-Tau a un individuo (*por ej.*, quien corre el riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau).

En algunos aspectos, la invención proporciona un método para retrasar el desarrollo de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau; o un anticuerpo anti-Tau o un medicamento que comprende anticuerpo anti-Tau para retrasar el desarrollo de una enfermedad o trastorno asociado con la proteína Tau (tal como cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos en la presente

invención, por ejemplo, EA). Los métodos proporcionados en la presente invención comprenden la administración de una cantidad (*por ej.*, una cantidad terapéuticamente eficaz) de un anticuerpo anti-Tau a un individuo (*por ej.*, quien muestra uno o más síntomas de una enfermedad o trastorno asociado con la

5 proteína Tau).

En un aspecto adicional, la invención proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los anticuerpos anti-Tau proporcionados en esta invención, *por ej.*, para utilizar en cualquiera de los métodos terapéuticos antes mencionados. En algunas realizaciones, una

10 formulación farmacéutica comprende cualquiera de los anticuerpos anti-Tau proporcionados en esta invención y un portador farmacéuticamente aceptable. En otra realización, una formulación farmacéutica comprende cualquiera de los anticuerpos anti-Tau proporcionados en la presente invención y por lo menos un agente terapéutico adicional, *por ej.*, según lo descrito más adelante.

15 Los anticuerpos de la invención pueden utilizarse ya sea por sí solos o en combinación con otros agentes en una terapia. Por ejemplo, un anticuerpo de la invención puede ser administrado en forma conjunta con por lo menos un agente terapéutico adicional.

Por ejemplo, la composición de acuerdo con la invención puede ser

20 administrada en combinación con otras composiciones que comprenden un agente terapéutico adicional, tal como una sustancia o compuesto biológicamente activo tal como, por ejemplo, un compuesto conocido empleado en la medicación de tauopatías y/o de amiloidosis, un grupo de enfermedades y trastornos asociados con proteína amiloide o tipo amiloide tal como la proteína β amiloide

25 involucrada en la enfermedad de Alzheimer.

En general, el otro compuesto biológicamente activo puede incluir mejoradores de la transmisión de neuronas, fármacos sicoterapéuticos,

inhibidores de la acetilcolina esterasa, bloqueadores de los canales del calcio, aminas biogénicas, tranquilizantes de benzodiazepina, síntesis de acetilcolina, mejoradores del almacenamiento o de la liberación, agonistas receptores pos-sinápticos de acetilcolina, inhibidores de monoamina oxidasa A o B, antagonistas de receptores de N-metil-D-aspartato glutamato, fármacos antiinflamatorios no esteroideos, antioxidantes, antagonistas de receptores serotoninérgicos u otros agentes terapéuticos. En particular, el agente o compuesto biológicamente activo puede comprender por lo menos un compuesto seleccionado entre compuestos contra el estrés oxidativo, compuestos antiapoptóticos, quelantes metálicos, inhibidores de la reparación del ADN tales como pirenzepina y metabolitos, ácido 3- amino-1-propanosulfónico (3APS), 1,3-propanodisulfonato (1,3PDS), activadores de secretasa, inhibidores de beta- y gamma-secretasa, proteínas tau, anticuerpos anti Tau (incluyendo, entre otros, anticuerpos descritos en WO 2012049570, WO2014028777, WO2014165271, WO2014100600, WO2015200806, US8980270, and US8980271), neurotransmisor, rompedores de lámina beta, moléculas antiinflamatorias, "antisicóticos atípicos" tales como, por ejemplo clozapina, ziprasidona, risperidona, aripiprazol o olanzapina o inhibidores de colinesterasa (ChEIs) tales como tacrina, rivastigmina, donepezil, y/o galantamina y otros fármacos y suplementos nutritivos tales como, por ejemplo, vitamina B 12, cisteína, un precursor de acetilcolina, lecitina, colina, Ginkgo biloba, acetil-L-carnitina, idebenona, propentofillina, o un derivado de xantina, junto con un péptido de unión de acuerdo con la invención incluyendo anticuerpos, particularmente anticuerpos monoclonales y sus fragmentos activos, y, opcionalmente, un portador farmacéuticamente aceptable y/o un diluyente y/o un excipiente e instrucciones para el tratamiento de enfermedades.

En algunas realizaciones, un anticuerpo de la invención puede ser administrado en combinación con un fármaco neurológico. Dichos fármacos

neurológicos incluyen, entre otros, un anticuerpo u otra molécula de unión (incluyendo, meramente a título enunciativo una molécula pequeña, un péptido, un aptámero, u otro aglutinante proteico) que se une específicamente a un objetivo seleccionado entre: beta secretasa, presenilina, proteína precursora amiloide o sus porciones, péptido beta amiloide o los oligómeros o fibrilas de los mismos, receptor de muerte 6 (DR6), receptor para productos finales de glicación avanzada (RAGE, por sus siglas en inglés), parkina, y huntingtina; un antagonista del receptor NMDA (es decir, memantina), un agente de depleción de monoamina (es decir, tetrabenazina); un mesilato ergoloide; un agente anticolinérgico antiparkinsonismo (es decir, prociclidina, difenhidramina, trihexilphenidilo, benztropina, biperiden y trihexifenidil); un agente dopaminérgico antiparkinsonismo (es decir, entacapona, selegilina, pramipexol, bromocriptina, rotigotina, selegilina, ropinirol, rasagilina, apomorfina, carbidopa, levodopa, pergolida, tolcapona y amantadina); una tetrabenazina; un antiinflamatorio (incluyendo, entre otros, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (es decir, indometicina y otros compuestos enlistados anteriormente); una hormona (es decir, estrógeno, progesterona y leuprólido); una vitamina (es decir, folato y nicotinamida); una dimebolina; una homotaurina (es decir, ácido 3-aminopropansulfónico; 3APS); un modulador de la actividad del receptor de serotonina (es decir, xaliproden); un interferón, y un glucocorticoide o corticosteroide. El término “corticosteroide” incluye, entre otros, fluticasona (incluyendo propionato de fluticasona (FP)), beclometasona, budesonida, ciclesonida, mometasona, flunisolida, betametasona y triamcinolona. “Corticosteroide inhalable” significa un corticosteroide que es adecuado para la administración por inhalación. Los ejemplos de corticosteroides inhalables son fluticasona, dipropionato de beclometasona, budenosida, furoato de mometasona, ciclesonida, flunisolida, y acetónido de triamcinolona.

En algunas realizaciones, se puede administrar uno o más anticuerpos beta anti-amiloides (anti-Abeta) con un anticuerpo anti-Tau proporcionado en la presente invención. Los ejemplos no limitativos de dichos anticuerpos anti-Abeta incluyen crenezumab, solanezumab, bapineuzumab, aducanumab, 5 gantenerumab, y BAN-2401 (Biogen, Eisai Co., Ltd.). En algunas realizaciones, se puede administrar uno o más inhibidores de la agregación de beta-amiloides con un anticuerpo anti-Tau proporcionado en la presente invención. Los ejemplos no limitativos de los inhibidores de la agregación de beta-amiloides incluyen ELND-005 (también denominado AZD-103 o scilo-inositol), tramiprosato y PTI-80 10 (Exebryl-1®, ProteoTech). En algunas realizaciones, se puede administrar uno o más inhibidores de BACE con un anticuerpo anti-Tau proporcionado en la presente invención. Los ejemplos no limitativos de dichos inhibidores de BACE incluyen E-2609 (Biogen, Eisai Co., Ltd.), AZD3293 (también conocido como LY3314814, AstraZeneca, Eli Lilly & Co.), MK-8931 (verubecestat) y JNJ- 15 54861911 (Janssen, Shionogi Pharma). En algunas realizaciones, se puede administrar uno o más inhibidores de Tau con un anticuerpo anti-Tau proporcionado en la presente invención. Los ejemplos no limitativos de dichos inhibidores de Tau incluyen metiltioninio, LMTX (también conocido como leuco-metiltioninio o Trx-0237; TauRx Therapeutics Ltd.), Rember™ (azul de metileno o 20 cloruro de metiltioninio [MTC]; Trx-0014; TauRx Therapeutics Ltd., PBT2 (Prana Biotechnology), y PTI-51-CH3 (TauPro™; ProteoTech). En algunas realizaciones, se pueden administrar uno o más anticuerpos anti-Tau diferentes con un anticuerpo anti-Tau proporcionado en la presente invención. Los ejemplos no limitativos de dichos otros anticuerpos anti-Tau incluyen BMS-986168 (Bristol- 25 Myers Squibb) y C2N-8E12 (AbbVie, C2N Diagnostics, LLC). En algunas realizaciones, puede administrarse un inhibidor general de plegado erróneo, tal

como NPT088 (NeuroPhage Pharmaceuticals), con un anticuerpo anti-Tau proporcionado en la presente invención.

En algunas realizaciones, la composición de acuerdo con la invención puede comprender niacina o memantina junto con un anticuerpo quimérico o un anticuerpo humanizado de acuerdo con la invención incluyendo anticuerpos, particularmente anticuerpos monoclonales y los fragmentos activos de los mismos, y, opcionalmente, un portador farmacéuticamente aceptable y/o un diluyente y/o un excipiente.

En algunas realizaciones, se proveen composiciones que comprenden “antisicóticos atípicos” tales como, por ejemplo clozapina, ziprasidona, risperidona, aripiprazol o olanzapina para el tratamiento de los síntomas sicóticos positivos y negativos incluyendo alucinaciones, delirios, trastornos del pensamiento (manifestados por incoherencia marcada, descarrilamiento, tangencialidad), y comportamiento bizarro o desorganizado, así como también anhedonia, insensibilidad emocional, apatía y aislamiento social, junto con el anticuerpo quimérico o el anticuerpo humanizado de acuerdo con la invención o los fragmentos activos del mismo, y, opcionalmente, un portador farmacéuticamente aceptable y/o un diluyente y/o un excipiente.

Otros compuestos que pueden ser adecuadamente empleados en las composiciones además del anticuerpo quimérico o anticuerpo humanizado de acuerdo con la invención, son aquellos descritos, por ejemplo, en WO 2004/058258 (véase especialmente las páginas 16 y 17) incluyendo objetivos farmacológicos terapéuticos (página 36–39), ácidos alcanosulfónicos y ácido alcanolsulfúrico (páginas 39–51), inhibidores de colinesterasa (páginas 51–56), antagonistas de receptores de NMDA (páginas 56–58), estrógenos (páginas 58–59), fármacos antiinflamatorios no esteroideos (páginas 60–61), antioxidantes (páginas 61–62), agonistas de los receptores activados por proliferadores de

peroxisoma (PPAR, por sus siglas en inglés) (páginas 63–67), agentes reductores del colesterol (páginas 68–75); inhibidores amiloides (páginas 75–77), inhibidores de la formación amiloide (páginas 77–78), quelantes metálicos (páginas 78–79), antiscóticos y antidepresivos (páginas 80–82), suplementos nutricionales (páginas 83–89) y compuestos que aumentan la disponibilidad de sustancias biológicamente activas en el cerebro (véase las páginas 89–93) y profármacos (páginas 93 y 94), dicho documento es incorporado a la presente a modo de referencia, aunque especialmente los compuestos mencionados en las páginas indicadas anteriormente.

10 Dichas terapias combinadas mencionadas anteriormente abarcan la administración combinada (en la cual se incluyen dos o más agentes terapéuticos en las mismas formulaciones o en formulaciones separadas) y la administración separada, en cuyo caso, la administración del anticuerpo de la invención puede ocurrir antes, en forma simultánea, y/o después de la administración del agente o
15 agentes terapéuticos adicionales. En algunas realizaciones, la administración del anticuerpo anti-Tau y la administración de un agente terapéutico adicional ocurren dentro de aproximadamente un mes, o dentro de una, dos o tres semanas, o dentro de aproximadamente uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis días, una de la otra.

20 Un anticuerpo de la invención (y cualquier agente terapéutico adicional) se puede administrar mediante cualquier medio adecuado, incluyendo la administración parenteral, intrapulmonar, e intranasal, y, si se desea para el tratamiento local, a través de la administración intralesional. Las infusiones parenterales incluyen la administración intramuscular, intravenosa, intraarterial,
25 intraperitoneal o subcutánea. La dosificación puede ser por cualquier ruta adecuada, *por ej.* por inyecciones, tales como inyecciones intravenosas o subcutáneas, dependiendo en parte de si la administración es breve o crónica.

Se contemplan en la presente invención diversos programas de dosificación incluyendo meramente a título enunciativo administraciones únicas o múltiples en diversos puntos de tiempo, administración por bolo, e infusión pulsada.

Los anticuerpos de la invención serían formulados, dosificados y administrados en forma consistente con la buena práctica médica. Los factores para tener en cuenta en este contexto incluyen el trastorno en particular que se está tratando, el mamífero en particular que se está tratando, la afección clínica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de administración del agente, el método de administración, la programación de la administración y otros factores conocidos por los profesionales de la medicina. El anticuerpo no necesariamente es formulado, aunque es opcionalmente formulado, con uno o más agentes actualmente empleados para evitar o tratar el trastorno en cuestión. La cantidad eficaz de dichos otros agentes depende de la cantidad de anticuerpo presente en la formulación, del tipo de trastorno o tratamiento y de otros factores descritos con anterioridad. Estos son empleados generalmente en las mismas dosis y con las vías de administración descritas en la presente invención, o aproximadamente entre 1 y 99% de las dosis descritas en esta invención, o en cualquier dosificación y mediante cualquier vía que se determine empíricamente / clínicamente que es apropiada.

Para la prevención o tratamiento de enfermedad, la dosis apropiada de un anticuerpo de la invención (cuando se utiliza por sí solo o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales) dependerá del tipo de enfermedad que será tratada, del tipo de anticuerpo, de la severidad y curso de la enfermedad, si el anticuerpo es administrado con fines preventivos o terapéuticos, de la terapia previa, de la historia clínica del paciente y de la respuesta al anticuerpo, y del criterio del médico interviniente. El anticuerpo es adecuadamente administrado al paciente en una vez o durante una serie de tratamientos. Dependiendo del tipo y

severidad de la enfermedad, aproximadamente 1 $\mu\text{g/kg}$ a 15 mg/kg (*por ej.* 0,1 mg/kg –10 mg/kg) de anticuerpo puede ser una dosificación candidata inicial para la administración al paciente, ya sea, por ejemplo, mediante una o más administraciones separadas, o mediante infusión continua. Una dosificación diaria

5 típica podría oscilar entre aproximadamente 1 $\mu\text{g/kg}$ y 100 mg/kg o más, dependiendo de los factores mencionados con anterioridad. Para las administraciones repetidas durante varios días o más tiempo, dependiendo de la afección, el tratamiento en general sería sostenido hasta producirse una supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Una dosificación ejemplar

10 del anticuerpo estaría en el rango entre aproximadamente 0,05 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg . Por lo tanto, se pueden administrar una o más dosis de aproximadamente 0,5 mg/kg , 2,0 mg/kg , 4,0 mg/kg o 10 mg/kg (o cualquier combinación de las mismas) al paciente. Dichas dosis pueden ser administradas en forma discontinua, *por ej.* cada semana o cada tres semanas (*por ej.* de tal

15 modo que el paciente reciba entre aproximadamente dos y aproximadamente veinte, o *por ej.* aproximadamente seis dosis del anticuerpo). Puede administrarse una dosis de carga más alta inicial, seguida por una o más dosis inferiores. Sin embargo, pueden ser de utilidad otros regímenes de dosificación. El progreso de esta terapia es fácilmente monitoreado mediante técnicas y ensayos

20 convencionales.

Se entiende que pueden llevarse a cabo cualquiera de las formulaciones o métodos terapéuticos antes mencionados empleando un inmunoconjugado de la invención en lugar de, o además de, un anticuerpo anti-Tau.

H. Artículos de Manufactura

25 En otro aspecto de la invención, se proporciona un artículo de manufactura que contiene materiales útiles para el tratamiento, prevención y/o diagnóstico de los trastornos descritos con anterioridad. El artículo de manufactura comprende

un envase y una etiqueta o prospecto en o asociado con el envase. Los envases adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, frascos, jeringas, bolsas de solución IV, etc. Los envases pueden estar formados de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico. El envase sostiene una composición la cual está sola o combinada con otra composición eficaz para tratar, prevenir y/o diagnosticar la afección y puede tener una boca de acceso estéril (por ejemplo el envase puede ser una bolsa de solución intravenosa o un frasco que tiene un tapón perforable mediante una aguja de inyección hipodérmica). Por lo menos un agente activo en la composición es un anticuerpo de la invención. La etiqueta o prospecto indica que la composición se utiliza para tratar la afección de elección. Asimismo, el artículo de manufactura puede comprender (a) un primer envase con una composición contenida en el mismo, donde la composición comprende un anticuerpo de la invención; y (b) un segundo envase con una composición contenida en el mismo, donde la composición comprende un agente terapéutico citotóxico adicional u otro agente terapéutico. El artículo de manufactura en esta realización de la invención puede comprender además un prospecto que indica que las composiciones pueden utilizarse para tratar una afección en particular. Alternativa, o adicionalmente, el artículo de manufactura puede comprender además un segundo (o tercer) envase que comprende un buffer farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI, por sus siglas en inglés), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros buffers, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

Se entiende que cualquiera de los artículos antes mencionados de manufactura puede incluir un inmunoconjugado de la invención en lugar de o además de un anticuerpo anti-Tau.

III. EJEMPLOS

Lo que sigue son ejemplos de métodos y composiciones de la invención. Se entiende que pueden practicarse diversas otras realizaciones, dada la descripción general proporcionada con anterioridad.

Ejemplo 1: Generación de Tau para Inmunización

Generación de Tau recombinante monomérica

Se fusionó la construcción de Tau humana recombinante, la isoforma 2N4R (aminoácidos 2–441), a una etiqueta His N-terminal para facilitar la purificación y caracterización. Véase, *por ej.*, la Figura 15. Se clonó la construcción de fusión en el vector pET52b (Novagen) y se expresó en *E. coli*. Se recolectaron y lisaron las células bajo condición desnaturalizante empleando cloruro de guanidinio 7M durante toda la noche a 4°C con agitación. Se peletizó el residuo celular a 40.000 rpm durante 1 hora. Se aisló la proteína marcada con His, recombinante, mediante cromatografía de afinidad con níquel (resina de afinidad Ni Sepharose excel, GE Healthcare Life Sciences) seguido por cromatografía de exclusión por tamaño (resina Superdex 200, GE Healthcare Life Sciences) bajo condición desnaturalizante. Se eliminó el cloruro de guanidinio dializando la proteína recuperada en MES 20mM, NaCl 50mM, y TCEP 1mM a pH 6.8. Posteriormente se eliminó la etiqueta His empleando TEV proteasa, seguido por purificación final empleando cromatografía de intercambio catiónico (columna Mono S, GE Healthcare Life Sciences) para eliminar la etiqueta His disociada. El buffer de purificación contenía 0.1% Triton x-114 (v/v) para eliminar la endotoxina. Se intercambió la proteína purificada en PBS con TCEP 1mM. Se analizaron la pureza y el estado monomérico mediante SDS-PAGE y SEC-MALLS. Se confirmó la identidad mediante espectrometría de masas. Se determinó la

concentración proteica mediante absorción de UV a 280 nm. El producto final estaba libre de endotoxina (<0,5 EU/mg), según lo determinado mediante el ensayo del lisado de amebocitos del Limulus (Kinetic Limulus Amebocyte Lysate (LAL)).

5 *Generación de Tau fosforilada*

Se generó Tau fosforilada empleando la construcción Tau 2–441 preparada empleando el método descrito anteriormente. Se fosforiló la construcción proteica empleando 0,5 μ M de PKA quinasa (Life Technologies), la cual fosforila serina 409, entre otros residuos. Se incubó la mezcla de reacción con ATP 1mM, MgCl₂ 5mM, a temperatura ambiente durante 72 horas. Se confirmó la fosforilación mediante espectrometría de masas. Se empleó cromatografía de exclusión por tamaño (Superdex 75, GE Healthcare Life Sciences) para eliminar la quinasa. Se analizaron la pureza, el estado monomérico, y el nivel de endotoxina de la preparación de proteína fosforilada sustancialmente según lo descrito con anterioridad.

Oligomerización in vitro de Tau monomérica

Se generó Tau oligomérica empleando la construcción Tau 2–441 monomérica. En primer lugar, se intercambió la proteína monomérica en ácido N,N–Bis(2–hidroxietyl)–2–aminoetanosulfónico (BES) 20mM, NaCl 25mM, pH 7.4, seguido por oligomerización empleando ácido araquidónico 75 μ M (Cayman Chemicals) y 18 kDa de Heparina (Sigma Aldrich), en concentración equimolar con proteína a 37°C durante 3 días. Se confirmó la oligomerización por ensayo de fluorescencia con tioflavina T, dispersión de luz dinámica (DLS, por sus siglas en inglés) y cromatografía de exclusión por tamaño analítica. Tau oligomérica es en algunos casos denominada “oligoTau.”

Ejemplo 2: Generación de anticuerpos anti-Tau

Métodos

Generación de hibridomas

Se recibieron ratones del tipo salvaje hembras C57BL/6JOlaHsd (C57BL/6) y BALB/c OlaHsd (Balb/c) (Harlan, USA) con 9 semanas de edad. Se recibieron ratones con inactivación de Tau (B6.129–Mapttm1Hnd/J; The Jackson Laboratory, USA) a las 6 y 9 semanas de edad. Las vacunaciones comenzaron a las 12 hasta 15 semanas de edad. Los ratones fueron vacunados con Tau humana oligomerizada. Antes de la vacunación, se mezcló la oligoTau con uno de dos adyuvantes empleados en este estudio, Sistema Adyuvante Ribi Adjuvant System (Ribi; Sigma–Aldrich, Suiza) a 50% v/v, o una combinación de oligodesoxinucleótidos de ADN sintético de una sola hebra CpG (CpG; Microsynth, Suiza) e hidróxido de aluminio (Al; Brenntag, Suiza). Ribi es emulsión aceite en agua de escualeno al 2% que contiene lípido A de monofosforilo (aislado de *Salmonella minnesota*) y trehalosa dicorinomicolato sintético (aislado del factor de acordonamiento de *Tubercle bacillus*) en aceite de escualeno, 0,2% Tween–80, y agua.

Los ratones fueron vacunados mediante inyección subcutánea (s.c.), excepto los grupos D y G, los cuales recibieron una combinación de administraciones intraperitoneales (i.p.) y administraciones a través del jarrete. Los ratones en el grupo D recibieron administración de 50 µg de oligoTau i.p. y 10 µg de oligoTau como inyección en el jarrete. Los ratones del grupo G fueron administrados 8 µg de oligoTau i.p. y 2 µg de oligoTau como inyección en el jarrete. Véase la Tabla 2.

Para las vacunaciones que contienen CpG y Al (CpG/Al) como adyuvante, cada inyección de 200 µL contenía 60 µg (30 nmol) de CpG, 1 mg de Al, y 50 µg de oligoTau. Para todos los grupos del estudio, los ratones recibieron las

inyecciones los días 0, 14, 35 y 56. Los ratones empleados para la fusión de mieloma (Nanotools, Alemania) fueron adicionalmente vacunados con tres inyecciones diarias de refuerzo de oligoTau (50 µg por cada inyección i.p.) sin agregado de adyuvante.

5

Tabla 2. Ratones y protocolos de vacunación

Grupo de estudio	Cepa de Ratón	Dosis de oligoTau total (µg/inyección)	Adyuvante	Ruta de vacunación
A	C57BL/6	50	CpG/Al	s.c.
B	C57BL/6	50	Ribi	s.c.
C	Balb/c	50	CpG/Al	s.c.
D	Balb/c	60	CpG/Al	jarrete+i.p.
E	Balb/c	5	CpG/Al	s.c.
F	Balb/c	50	Ribi	s.c.
G	Inactivación de Tau (knock-out)	10	Ribi	jarrete +i.p.

Los ratones fueron sangrados y sacrificados un día después de la última de tres inyecciones de refuerzo, y se fusionaron los esplenocitos con células de mieloma para generar hibridomas productores de anticuerpos.

10

Selección de hibridomas para subclonación

Para las fusiones, los ratones fueron divididos en tres grupos, para un total de 10 fusiones (2 fusiones en un grupo, cuatro fusiones en el segundo grupo, y cuatro fusiones en el tercer grupo), generando 299 hibridomas. Se cultivaron los hibridomas viables empleando medio de selección que contenía suero, y luego se seleccionaron los mejores hibridomas para la subclonación, empleando ensayos ELISA para la unión a Tau humana de longitud completa y oligoTau según lo descrito más adelante. Después de dilución de limitación, se cultivaron los hibridomas finales en medio libre de suero y se recolectó medio de las colonias estables para screening de anticuerpo y selección.

15

20

Ensayos de screening ELISA

Se recolectaron los sobrenadantes libres de suero de hibridomas estables. Luego se seleccionaron los sobrenadantes que contenía anticuerpos de interés mediante ensayos ELISA para caracterizar propiedades de anticuerpos y seleccionar anticuerpos para posterior desarrollo. Se emplearon ensayos ELISA para determinar lo siguiente: unión a Tau humana de longitud completa (flTau; SignalChem, Canadá), unión a flTau hiperfosforilada (Genentech, Estados Unidos de América), unión a preparaciones oligoméricas en comparación con monoméricas de flTau, y unión a ciertos epítipo(s) de Tau de anticuerpo. Brevemente, se recubrieron placas de ELISA de 96 pocillos MaxiSorp (Nunc, Dinamarca) con uno de los objetivos como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Objetivos empleados para los ensayos de screening ELISA.

Ensayo	ELISA configuración	Objetivo
Unión a flTau	ELISA Directo	Tau humana de longitud completa (flTau) recubierta a 1 µg/mL
Unión a pTau	ELISA Directo	Tau humana de longitud completa fosforilada <i>in vitro</i> empleando 4 quinasas (GSK3β, Cdk5, PKA, y CK1δ; Tau hiperfosforilada o pTau) purificadas y recubiertas a 1 µg/mL
Mapeo de epítomos	ELISA Directo	Péptidos 15-mero biotinilados que abarcan los 441 aminoácidos (aa) de Tau humana con 9 aa offset y 6 aa superpuestos recubierta a 10 µg/mL sobre una placa de 96 pocillos con estreptavidina
Unión a oligoTau	ELISA captura	flTau oligomérica y monomérica biotinilada con etiqueta AVI capturada en solución mediante anticuerpos inmovilizados anti-IgG que se están analizando

Se realizó el recubrimiento durante toda la noche en solución salina tamponada con fosfato (PBS) a 4°C. Se lavaron las placas vigorosamente con 0,05% Tween-20/PBS y luego se bloquearon con 1% de seroalbúmina bovina (BSA) en 0.05% Tween-20/PBS durante 1 hr a 37°C. Luego se agregó el anticuerpo contenido en el sobrenadante de los hibridomas en las diluciones

indicadas, y se incubó durante 2 hrs a 37°C después de lo cual se lavaron las placas según lo descrito anteriormente.

Para los ELISAs directos, se agregó un anticuerpo secundario de IgG anti-ratón conjugado a AP (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Reino Unido) a una dilución 1/6000 en 0.05% Tween-20/PBS durante 2 hr a 37°C. Después del lavado final, se incubaron las placas con solución de sustrato de fosfatasa p-nitrofenilfosfato disódico hexahidrato (pNPP; Sigma-Aldrich, Suiza) y se leyó a 405 nm empleando un lector de placas de ELISA (Tecan, Suiza). Los resultados son expresados como densidades ópticas (D.O.).

Para los ELISAs de captura de oligoTau y monoTau, se inmovilizaron anticuerpos contenidos en sobrenadantes de hibridomas estériles libres de suero sobre una placa recubierta con anti-IgG a dilución de 500 veces, seguido por la incubación de oligoTau o monoTau, ambos con biotinilación específica del sitio vía una etiqueta AVI. Las incubaciones objetivo comenzaron a 5 µg/mL y luego se diluyeron 8 o 16 veces. Se empleó sustrato de estreptavidina-HRP y ABTS para la cuantificación de señales en un lector de placas (Tecan, Suiza). Los resultados son expresados como D.O.

Estimaciones de Afinidad

Se estimó la afinidad de los anticuerpos no purificados en sobrenadantes de hibridomas libres de suero mediante resonancia de plasmón de superficie empleando un instrumento Biacore T-100 (GE Healthcare, Reino Unido). Se inmovilizaron los anticuerpos sobre un chip biosensor anti-IgG, y se empleó flTau (SignalChem, Canadá) como el analito objetivo. Se realizó un análisis cinético empleando un modelo de ajuste de Langmuir 1:1.

Ensayos SDS-PAGE y Western-blot

Se analizó la unión de anticuerpos panTau seleccionados contra Tau en cerebro humano en un Western-blot (WB) empleando lisados cerebrales de tres

donantes con EA y dos donantes control sin EA con las mismas edades (Tissue Solutions, Reino Unido). Se procesaron los lisados para obtener una fracción de Tau soluble libre de detergente. Se cargaron los lisados procesados sobre geles bis-tris al 4–12% (Novex, Life Technologies, Suiza) y se transfirieron a
 5 membranas Immobilon PVDF y se sometieron a blotting con los anticuerpos que se estaban ensayando y un anticuerpo secundario anti-ratón de cabra IRDye 800CW (Li–Cor, Estados Unidos de América).

Ensayo ELISA empleando lisados de cerebro humano

Para evaluar la unión de los anticuerpos seleccionados a Tau humana no
 10 desnaturalizada en lisados de cerebro con EA y control, se inmovilizaron los anticuerpos de sobrenadantes de hibridoma, o control negativo y positivo, sobre una placa de 96 pocillos según lo descrito anteriormente. Luego se capturó Tau en lisados de cerebro humano solubles de sujetos controles o con EA de las mismas edades (400 µg/mL de proteína; todos de Tissue Solutions, Reino Unido)
 15 y se realizó la detección empleando un anticuerpo de panTau de conejo policlonal (AbCam, Reino Unido) seguido por un IgG-AP anticonejo específico de fragmento de Fc-γ (Jackson ImmunoResearch, E.E.U.U.). Se empleó lisado cerebral de ratón con inactivación de Tau como un control negativo de muestra. Se incubaron las placas con solución de sustrato de fosfatasa pNPP (Sigma–Aldrich), y se
 20 leyeron a 405 nm empleando un lector de placas de ELISA (Tecan, Suiza). Los resultados son expresados como densidades ópticas (D.O.).

Secuenciamiento de hibridomas de anticuerpos

Se suministraron lisados de células de hibridomas a Antitope (Antitope, Reino Unido) para el secuenciamiento de genes de regiones variables.
 25 Brevemente, se llevó a cabo RT–PCR empleando grupos de cebadores degenerativos para secuencias señal murinas junto con cebadores de región constante para cada una de cadenas pesada variable de IgG (VH), VH de IgM,

ligera variable kappa de Ig (KVL) y λ VL de Ig. Se amplificó ARNm de región V de
 cadena pesada empleando un conjunto de seis grupos de cebadores
 degenerativos (HA a HF) específicos para secuencias señal de VH junto con
 cebadores de región constante específicos de IgM o de IgG. Se amplificó el
 5 ARNm de región V de cadena ligera empleando un conjunto de ocho grupos de
 cebadores degenerativos específicos de secuencias señal, siete para el
 agrupamiento κ (KA a KG) y uno para el agrupamiento λ (LA), junto con
 cebadores de región constante κ o λ . Se purificaron los productos de la PCR
 obtenidos de la amplificación exitosa, se clonaron en un vector de clonación 'TA'
 10 (pGEM-T Easy, Promega), se transformaron en E.coli y las colonias individuales
 se secuenciaron. Se determinaron las secuencias de nucleótidos y aminoácidos
 de las regiones VH y VL de los anticuerpos con las secuencias para 27
 hibridomas de anticuerpos.

Resultados

15 *Selección de hibridomas para subclonación*

Los hibridomas que fueron generados de cada una de las tres rondas de
 fusiones, un total de 299 hibridomas derivados de diez fusiones, se sometieron a
 ensayos adicionales para determinar la unión a pTau y a Tau oligomerizada.
 El objetivo consistió en seleccionar anticuerpos que unión igual de buena a Tau y
 20 a Tau modificada postraduccionalmente, tal como Tau fosforilada u oligomérica.
 Para esto, se llevaron a cabo ensayos sobre hibridomas para seleccionar las
 mejores propiedades de panTau. Para determinar la región de unión al anticuerpo
 y el epítipo de Tau específico, se determinó en primer lugar la región de unión
 empleando fragmentos diferentes de Tau y luego una genoteca de péptidos de
 25 Tau superpuestos 15-meros que abarcan a la secuencia completa de 441
 aminoácidos (aa) de la isoforma más larga de Tau humana. Se evitó en forma
 intencional un grupo de anticuerpos que se unen a regiones predeterminadas de

Tau con el objetivo de aumentar al máximo la unión a diferentes formas modificadas postraduccionalmente de Tau y a la totalidad de seis isoformas de Tau humana diferentes presentes en los seres humanos.

Las tres series de fusión dieron como resultado la generación de 133
5 hibridomas estables subclonados que fueron seleccionados para determinar las mejores propiedades de panTau. Se empleó una combinación de ensayos diferentes de screening para reducir la cantidad de hibridomas de anticuerpos que tienen las propiedades preferidas para un anticuerpo contra panTau. Para comparar la unión de flTau y pTau, se analizaron 90 hibridomas con los
10 resultados de 24 hibridomas mostrados en la Figura 1 A-F. Como una selección inicial se había llevado a cabo empleando fragmentos de Tau para evitar seleccionar anticuerpos que se unen a regiones de Tau que se sabe que tienen densidad elevada de residuos que son fosforilados en la enfermedad de Alzheimer (EA) y en otras tauopatías, la mayoría de los anticuerpos analizados se
15 unieron tanto a flTau como a pTau con propiedades similares de unión según lo determinado por este ELISA.

En algunas realizaciones, es deseable que un anticuerpo contra panTau se una tanto a las formas monoméricas como oligoméricas de Tau sin una fuerte preferencia hacia una o la otra. Se configuró un ELISA de captura para determinar
20 si los anticuerpos se unían tanto a las formas monoméricas como a las formas oligoméricas de flTau. Un ELISA realizado en modo de captura conserva la conformación oligomérica de Tau pre-oligomerizada y el estado monomérico de monoTau mejor que cuando se realiza como un ELISA directo con los objetivos inmovilizados sobre una placa de ELISA.

25 Cada ensayo se realizó comparando directamente la unión de las dos formas de Tau a los 90 anticuerpos analizados. Se emplearon los anticuerpos que se sabía que tenían unión preferida a oligoTau o que no discriminaban entre las

dos formas de Tau como controles en cada ensayo. Los resultados de 18 hibridomas se muestran en la Figura 2A-E.

El mapeo de los epítomos es importante para seleccionar anticuerpos con buenas propiedades de panTau, ya que pueden evitarse los anticuerpos que se unen a regiones con densidad elevada de potenciales residuos de pTau (Ser, Thr y Tyr). También se utilizó la unión a las seis isoformas de Tau humana como un criterio de selección para un anticuerpo contra panTau. Los epítomos de panTau de anticuerpos que habían sido inicialmente seleccionados fueron verificados y determinados con exactitud mejorada empleando una genoteca de 49 péptidos cada una con 15 aminoácidos (aa) que abarcan la longitud completa de Tau humana, con una superposición de 6 residuos de aa y una compensación ("offset") de 9 aa. Los números de residuos se basan en la isoforma más larga de Tau humana (441 aa). Se emplearon los anticuerpos no purificados a una dilución 1/10 elevada para verificar la unión contra la no unión a todos los péptidos. El screening de los anticuerpos de 112 hibridomas previamente seleccionados por ELISA indicó la unión a 20 epítomos diferentes de Tau (Tabla 4).

Tabla 4: Epítomos de Tau para anticuerpos

Anticuerpo	Epítomo de Tau (aa)	Anticuerpo	Epítomo de Tau (aa)
14F5-D9	1-15	30A1-C9	73-87
94B2-B12	1-15	30A1-D11	73-87
94B2-C1	1-15	28F5-G8	82-96
10A1-A6	10-24	28F5-H8	82-96
10A1-D8	10-24	33G9-A11	100-114
11E10-B8	10-24	33G9-B9	100-114
17G12-C11	10-24	52F2-E12	100-114
17G12-D5	10-24	52F2-E8	100-114
19H6-A1	10-24	52F6-B3	100-114
19H6-F7	10-24	52F6-F11	100-114
19H6-G8	10-24	56D3-C8	100-114
37D3-H12	10-24	56D3-E9	100-114
37D3-H9	10-24	70B10-B6B2	100-114

37E8-B4	10-24
37E8-C2	10-24
3A4-H4	10-24
3H10-E12(A)	10-24
3H10-G12	10-24
44B7-A9	10-24
44B7-B1	10-24
54C1-H11	10-24
61E7-B11	10-24
61H10-B4	10-24
61H10-H3	10-24
127G7-A5	10-24
127G7-E7	10-24
115A4-A3	10-24
115A4-B1	10-24
125B11-B6	10-24
73C8-A5	10-24
73C8-G4	10-24
76B4-D9	10-24
76B4-H7	10-24
123E9-B3	19-33
15C6-A7	19-33
19F8-B1	19-33
24A11-D5	19-33
63H3-B2	19-33
63H3-D8	19-33
64B9-E11	19-33
64B9-F12	19-33
45D2-C9	19-33
45D2-F4	19-33
72E12-B2	19-33
72G10-A7	19-33
72G10-B6	19-33
123E9-A1	19-42
19F8-C11	19-42
7A11-C12	19-42
89F4-A2	28-42
89F4-A1	28-44
12A10-E8	37-51
55E7-B12	37-51
72E12-H9	37-51

70B10-B6G12	100-114
78E4-D11	100-114
78E4-G4	100-114
30G1-B2	109-123
30G1-C11	109-123
49G10-F4	109-123
49G10-H1	109-123
65B1-A2	109-123
65B1-A7	109-123
73H6-B8	109-123
113F5-A8	109-123
113F5-F7	109-123
125B11-H3	109-123
26C1-B11	118-132
26C1-C8	118-132
74H10-A3	118-132
74H10-C3	118-132
78F3-B2	118-132
78F3-E7C6	118-132
78F3-E7H7	118-132
126H12-G6	136-150
126H12-H7	136-150
22G7-C9	154-168
22G7-G9	154-168
111B8-C4	163-177
111B8-F10	163-177
66F5-A1	172-177
66F5-F2	172-177
71H8-A1	190-204
71H8-D6	190-204
83E10-D10	190-204
83E10-D6	190-204
126F11-B3	217-231
126F11-G11	217-231
93A8-C9	397-411
93A8-D2	397-411

55E7-F11	37-51
30D12-B5	64-78
21C1-D8	64-78
21C1-G6	64-78
30D12-F6	64-78
31A3-A4	64-78
31A3-A7	64-78
77D1-D2	64-78
77D1-E6	64-78

Para las mediciones de afinidad a flTau, se midieron 46 anticuerpos empleando SPR en un instrumento Biacore, con las K_D s determinadas. Se realizaron mediciones de afinidad Biacore inmovilizando anticuerpos en un chip anti-IgG y utilizando flTau como el analito objetivo. Los resultados para 32 anticuerpos se muestran en la Tabla 5, con los anticuerpos clasificados en base a la afinidad hacia flTau. De los anticuerpos medidos para afinidad a flTau, 22 anticuerpos tenían afinidades mejores que 20 nM, de los cuales 14 anticuerpos tenían K_D s debajo de 5 nM y el anticuerpo 37D3-H9 tenía una K_D (afinidad) de 1 nM.

Tabla 5: Afinidad para flTau

Anticuerpo	K_D (nM)
37D3-H9	1
54C1-H11	1.5
123E9-A1	1.8
94B2-C1	1.9
24A11-D5	2
113F5-F7	2.4
89F4-A1	2.9
19F8-B1	2.9
61E7-C4	3.3
126F11-G11	4.2
26C1-C8	4.3
93A8-D2	4.3

Anticuerpo	K_D (nM)
3A4-H4	7.8
52F6-F11	8.4
3A4-A12	10.1
44B7-B1	14.7
3H10-E12	19.4
10A1-D8	19.6
52F2-E8	26
19H6-F7	39
34H4-F5	43
19H6-A1	56
34H4-B10	69
17G12-C11	118

37E8-B4	4.4	45H12-C4	139
61E7-B11	4.8	17G12-D5	161
125B11-H3	6	61H10-H3	177
54C1-C3	6.8	11E10-C3	399

Para verificar la unión de los anticuerpos seleccionados a las seis isoformas de Tau humana, se llevó a cabo un SDS-PAGE con una escalera de Tau recombinante que contenía las seis isoformas y se realizó un Western-blot (WB) empleando tres anticuerpos anti-Tau seleccionados. Los tres anticuerpos anti panTau se unen a las seis isoformas de Tau (Figura 3). Adicionalmente, se corrieron en forma simultánea homogenados cerebrales de tres controles de AD y dos controles de las mismas edades con fines comparativos. Según lo esperado, y en base a los epítomos mapeados, los tres anticuerpos analizados en este ensayo mostraron unión a las seis isoformas de Tau. La diferencia observada en los patrones de bandas entre donantes con EA humanos y control puede representar la mayor fosforilación y/o agregados de Tau SDS-estables de lo que se esperaba que estaría presente en sujetos con EA.

Se corrieron adicionalmente muestras control, y de enfermedad de Alzheimer (EA) humanas en un ensayo de captura de ELISA no desnaturizante para verificar la unión a Tau en cerebros humanos. Se corrieron lisados de muestra procesados para Tau soluble de dos sujetos con EA y dos sujetos controles sin EA de las mismas edades a 8 diluciones ensayando tres anticuerpos (Figura 4A-C).

Se determinaron las secuencias de cadena variable de anticuerpos para 27 hibridomas (Antitope, Reino Unido). Las secuencias proteicas para ciertos dominios variables de cadena pesada y ligera y regiones hipervariables (HVRs) se muestran en la Tabla de Secuencias.

Ejemplo 3: Caracterización de Anticuerpos anti-Tau

Se construyeron cadenas pesada y ligera de anticuerpos por medio de la síntesis génica y subclonación del ADN resultante en vectores de expresión en mamífero de (cadena pesada) IgG2a murina y (cadena ligera) kappa murina. Se expresaron los anticuerpos en células CHO o 293T mediante cotransfección transitoria de los plásmidos de cadena pesada y cadena ligera y se purificaron con resina de afinidad MabSelectSure (GE Healthcare Life Sciences). Se seleccionaron anticuerpos recombinantes purificados para la unión a proteína monomérica Tau en un instrumento de resonancia de plasmón superficial Biacore T200 utilizando un kit de captura de IgG de ratón y un chip Serie S CM5. Se capturaron anticuerpos en formato mIgG2a diluidos en HEPES 10mM pH7.4, NaCl 150 mM, 0,05% Tween 20 (buffer de corrida, HBSP) durante 30 o 45 segundos a una concentración de 1 µg/ml (anticuerpos 26C1, 94B2-C1, 52F6-F11.v1, 52F6-F11.v2, 11E10-B8, 55E7-F11, 125B11-H3, 123E9-A1, 30G1-B2, 66F5-A1, 89F4-A1, 93A8-D2 y 126F11-G11) o durante 70 o 150 segundos a una concentración de 0,1 µg/ml (anticuerpos 19H6-F7, 3A4-H4, 54C1-H11 y 37D3-H9) utilizando una velocidad de flujo de 10 µl/min. Se monitoreó la unión de monómero de Tau en HBSP a 25°C empleando una velocidad de flujo de 30 µl/min y concentraciones de 16, 31, 63, 125, 125, 250 y 500 nM para los anticuerpos 26C1 y 94B2; 16, 31, 63, 125, 125, 250, 500 y 1000 nM para los anticuerpos 52F6-F11.v1 y 52F6-F11.v2; 6, 19, 56, 56, 167 y 500 nM para los anticuerpos 11E10-B8, 55E7-F11 y 125B11-H3; 5, 16, 49, 148, 148, 444, 1333 y 4000 nM para los anticuerpos 123E9-A1, 30G1-B2, 66F5-A1, 89F4-A1, 93A8-D2 y 126F11-G11; 0.4, 1.6, 6.3, 2.5, 100 y 400 nM para 19H6-F7; y 0.2, 0.8, 4, 4, 20 y 100 nM para 3A4-H4, 54C1-H11 y 37D3-H9. Se monitorearon los tiempos de asociación y disociación durante 180-480 segundos y durante 300-600 segundos respectivamente. Se seleccionó el anticuerpo 37D3-H9 para posterior

análisis debido a la elevada afinidad (Tabla 6) y la ausencia de motivos de glicosilación NXS/T en las CDRs.

5 Tabla 6: K_D (nM) de anticuerpos murinos contra el monómero de Tau humana. Los datos mostrados representan los datos de salida de un modelo de unión 1:1.

Anticuerpo	K_D (nM)	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)
26C1	17	4×10^4	7×10^{-4}
94B2-C1	6	5×10^4	3×10^{-4}
54C1-H11	0.6	3×10^5	2×10^{-4}
3A4-H4	12	3×10^4	3×10^{-4}
37D3-H9	1.6	1×10^5	1×10^{-4}
19H6-F7	10	2×10^5	2×10^{-3}
11E10-B8	108	2×10^5	2×10^{-2}
55E7-F11	171	2×10^5	4×10^{-2}
125B11-H3	5	5×10^4	3×10^{-4}
123E9-A1	52	4×10^5	2×10^{-2}
30G1-B2	20	4×10^5	8×10^{-3}
66F5-A1	105	8×10^4	8×10^{-3}
89F4-A1	27	3×10^5	7×10^{-3}
93A8-D2	6	3×10^5	2×10^{-3}
126F11-G11	3	2×10^6	4×10^{-3}
52F6-F11.v1	15	5×10^4	7×10^{-4}
52F6-F11.v2	5	7×10^4	4×10^{-4}

37D3-H9 demuestra avidéz cuando se une a proteína Tau

La proteína Tau monomérica humana se acopló covalentemente a un chip CM5 serie S Biacore empleando el Kit de Acoplamiento de Amina Biacore Amine

Coupling Kit (GE Life Sciences), dando como resultado la inmovilización hasta un nivel de aproximadamente 128 UR. Se monitoreó la unión directa de 37D3–H9 en ambos formatos Fab y IgG empleando el formato experimental de cinética de un solo ciclo con cinco períodos de asociación de 300s cada uno y concentraciones de anticuerpo de 1, 2, 4, 8 y 16 nM (IgG) o 5, 10, 20, 40 y 80 nM (Fab). Se monitoreó la disociación durante 7200 segundos (Fab) o durante 14400 segundos (IgG). Se calculó un valor de la velocidad de disociación ajustando un modelo de unión 1:1 a la información. Las velocidades calculadas de disociación fueron 5.0×10^{-4} para 37D3–H9 Fab y 1.1×10^{-5} para 37D3–H9 IgG, una diferencia de 45 veces. La Figura 5 ilustra la diferencia en las velocidades de disociación de Fab (panel izquierdo) y IgG (panel derecho), lo cual indica que 37D3–H9 IgG está demostrando avidez.

Ejemplo 4: Humanización de Anticuerpos anti–Tau

Se humanizó el anticuerpo 37D3–H9 mediante injerto de las CDRs del anticuerpo y residuos de estructura de región variable seleccionados en estructuras consenso de anticuerpo humano (Dennis, M.S. (2010). CDR repair: A novel approach to antibody humanization. In Current Trends in Monoclonal Antibody Development and Manufacturing, S.J. Shire, W. Gombotz, K. Bechtold–Peters y J. Andya, eds. (Springer, Nueva York), pp. 9–28). Se evaluó el injerto sobre estructuras VH3, Vk2 y Vk1 consenso. El injerto de cadena pesada incluyó residuo murino en posición 49 (sistema de numeración de Kabat). El injerto de Vk2 incluyó residuos murinos en posiciones estructurales 2 y 4. El injerto de Vk1 incluyó residuos murinos en posiciones estructurales 2, 4 y 43. Se construyeron variantes humanizadas mediante síntesis génica y subclonación en vectores de expresión mamíferos de cadena Kappa e IgG1 o IgG4 humana. Se expresaron los anticuerpos mediante cotransfección de los plásmidos de cadena pesada y ligera

en células CHO y se purificaron con resina de afinidad MabSelect Sure. Se seleccionaron variantes humanizadas para afinidad hacia monómero de Tau humana empleando el kit de captura de IgG humana Biacore, un chip Serie S CM5 y un instrumento Biacore T200. Se diluyeron los anticuerpos hasta 2 µg/ml y se capturaron durante 15 segundos a 10 µl/min. Se monitoreó la asociación y disociación de 100, 33, 11 y 3.7 nM de monómero de Tau humana en HEPES 10mM pH7.4, NaCl 150mM, 0.05% Tween 20 (buffer de corrida, HBSP) durante 180 segundos y 600 segundos respectivamente a una velocidad de flujo de 30 µl/min. Se aplicó un modelo de unión 1:1 a los resultados (Tabla 7).

10

Tabla 7: Screening de afinidad de variantes humanizadas para Tau humana monomérica

Variante de anticuerpo	Estructura de cadena ligera	K _D (nM)
hu37D3-H9.v1	Kappa1	4.1
hu37D3-H9.v2	Kappa1	5.6
hu37D3-H9.v3	Kappa1	8.8
hu37D3-H9.v4	Kappa1	8.2
hu37D3-H9.v5	Kappa2	1.9
hu37D3-H9.v6	Kappa2	3.5
hu37D3-H9.v7	Kappa2	27.0
hu37D3-H9.v8	Kappa2	10.2
hu37D3-H9.v9	Kappa2	13.2
hu37D3-H9.v10	Kappa2	14.3
hu37D3-H9.v11	Kappa2	74.8

hu37D3– H9.v12	Kappa2	21.6
hu37D3– H9.v13	Kappa2	9.0
hu37D3– H9.v14	Kappa2	10.8
hu37D3– H9.v15	Kappa2	19.0
hu37D3– H9.v16	Kappa2	27.2
hu37D3– H9.v17	Kappa2	8.1
hu37D3– H9.v18	Kappa2	13.4
hu37D3– H9.v19	Kappa2	55.7
hu37D3– H9.v20	Kappa2	36.9
hu37D3– H9.v21	Kappa2	38.1
hu37D3– H9.v22	Kappa2	36.6
hu37D3– H9.v23	Kappa2	81.1
hu37D3– H9.v24	Kappa2	56.6

- Se caracterizaron adicionalmente las variantes de anticuerpos hu37D3–H9.v1, hu37D3–H9.v2, hu37D3–H9.v5 y hu37D3–H9.v6 mediante resonancia de plasmón de superficie con concentraciones de anticuerpos adicionales y tiempos más largos de asociación/ disociación. Se analizaron estas variantes con un rango más amplio de concentraciones monoméricas de Tau humana (1.2, 3.7, 11.1, 11.1, 33.3, 100 nM) y aumento de los períodos de asociación (300 segundos) y disociación (1200 segundos). Se aplicó un modelo de unión 1:1 a los resultados (Tabla 8).

Tabla 8: Análisis detallado de la cinética de unión de variantes seleccionadas a Tau humana mediante resonancia de plasmón de superficie

Variante de anticuerpo	Estructura de la cadena ligera	K _D (nM)
hu37D3–H9.v1	Kappa1	1.1 nM, 1.0 nM
hu37D3–H9.v2	Kappa1	1.2 nM
hu37D3–H9.v5	Kappa2	0.8 nM
hu37D3–H9.v6	Kappa2	1.4 nM

Se incorporó una mutación YTE (M252Y/S254T/T256E) en ciertos anticuerpos anti IgG4. Se han descrito mutaciones del dominio de unión al receptor de Fc–neonato (FcRn) tales como M252Y, S254T y T256E (YTE) para aumentar la unión a FcRn y así aumentar la vida media de los anticuerpos. Ver la Solicitud de Patente Publicada Estadounidense No. 2003/0190311 y Dall’Acqua *et al.*, *J. Biol. Chem.* 281:23514–23524 (2006).

Se humanizó el anticuerpo 125B11-H3 en estructuras consenso VH3 y Vk1. El injerto de la cadena pesada incluía residuos murinos en posición 78 (sistema de numeración de Kabat). El injerto Vk1 incluía residuos murinos en posiciones estructurales 43 y 87. La cadena ligera de 113F5–F7 fue también humanizada sobre la estructura Vk1, con residuos murinos adicionales en las posiciones estructurales 43 y 87. Se cotransfectaron cadenas pesadas (125B11) y cadenas ligeras (125B11 y 113F5–F7) de variantes humanizadas en combinaciones múltiples y se purificaron en formato de 96 pocillos según lo descrito anteriormente. Luego se seleccionaron las variantes humanizadas para determinar la afinidad para monómero de Tau humana empleando el kit de captura de IgG humana de Biacore, un chip CM5 Serie S y un instrumento

Biacore T200. Se diluyeron los anticuerpos hasta 2 µg/ml y se capturaron durante 15 segundos a 10 µl/min. Se monitoreó la asociación y disociación de 0, 100 y 500 nM de monómero de Tau humana en HBSP durante 180s y 300s respectivamente a una velocidad de flujo de 40 µl/min. Se aplicó un modelo de unión 1:1 a los resultados (Tabla 9).

Tabla 9: Screening de variantes de humanización 125B11-H3 y 113F5–F7 mediante resonancia de plasmón superficial

Screening K _D (nM)		variante de humanización de cadena pesada 125B11					
		HC1	HC2	HC3	HC4	HC5	HC6
variante de humanización de cadena ligera 125B11	LC1	16, 19	18	18	15	85	–
	LC2	20	20	19	14	–*	NT
	LC3	21	23	20	15	–	–
	LC4	23	22	20	17	>100	>100
variante de humanización de cadena ligera 113F5–F7	LC1	57	61	54	44	–	–
	LC2	67	68	55	47	–	–
	LC3	61	64	54	47	>100	–
	LC4	71	77	65	51	–	–

* Unión mínima a monómero de Tau.
NT, no analizado.

Las variantes hu125B11.v17 (HC3+LC1), hu125B11.v26 (HC4+LC2) y hu125B11.v28 (HC4+LC4) se seleccionaron para el análisis cinético de alta resolución basado en el screen de afinidad (Tabla 10). El anticuerpo 94B2-C1 fue humanizado sobre estructuras VH1 y Vk2. El injerto de cadena pesada también incluía residuos murinos en posición 28, 29, 67, 69, 71, y 73 (sistema de numeración de Kabat). El injerto Vk2 incluía además residuos murinos en posiciones estructurales 2, 36, y 46. Se expresaron, purificaron y seleccionaron combinaciones de ocho cadenas pesadas y ocho cadenas ligeras mediante resonancia de plasmón superficial (SPR, por sus siglas en

inglés) según lo descrito para 125B11 anteriormente. Los resultados del screening de SPR se muestran en la Tabla 11. La variante hu94B2.v105 (variante de cadena pesada 94B2.HC1, variante de cadena ligera 94B2.LC13) se seleccionó para la caracterización por SPR detallada (Tabla 11).

5 Tabla 10: Datos cinéticos para variantes de anticuerpos anti-Tau humanizados seleccionados

Anticuerpo	Isotipo	K_D (nM)	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)
hu125B11.v17	hIgG1	10.5	0.8×10^5	0.8×10^{-3}
hu125B11.v26	hIgG1	9.5	0.7×10^5	0.7×10^{-3}
hu125B11.v28	hIgG1	10.2	0.7×10^5	0.7×10^{-3}
hu94B2.v105	hIgG1	3.7	0.8×10^5	0.3×10^{-3}

Tabla 11: Screening de variantes de humanización 94B2 por resonancia de plasmón superficial

Screening K_D (nM)		94B2 Variante de humanización de cadena ligera:							
		LC9	LC10	LC11	LC12	LC13	LC14	LC15	LC16
94B2 Variante de humanización de cadena pesada:	HC1	3.8*	§	91.5	§	4.1 [¶]	§	104.0	§
	HC2	5.7	§	89.6	§	7.4	NT	99.6	§
	HC3	2.0	§	69.3	§	3.8	§	64.1	§
	HC4	61.9	§	§	§	64.1	§	§	§
	HC5	2.7	§	62.6	§	4.0	§	72.6	§
	HC6	0.9	§	70.1	§	3.0	§	74.1	§
	HC7	52.9	§	§	§	57.8	§	§	§
	HC8	1.0	§	44.3	§	2.4	§	51.5	§

10 *Media de n=3 repeticiones.

[¶] hu94B2.v105.

§ Unión mínima a monómero de Tau observado.

NT, no ensayado.

Ejemplo 5: Análisis de Estabilidad de Anticuerpos anti-Tau Humanizados

Identificación de inestabilidad química

Se estresaron térmicamente muestras de anticuerpos para simular la

5 estabilidad durante la vida útil del producto. Se intercambió el buffer de las muestras en buffer de acetato 20 mM, pH 5.5, o buffer de fosfato, pH 7.4, y se diluyó hasta una concentración de 1 mg/ml. Un ml de muestra se estresó a 40°C durante 2 semanas y se almacenó una segunda a -70°C como un control. Luego, ambas muestras fueron digeridas empleando tripsina para crear péptidos que

10 pudieran ser analizados empleando análisis de cromatografía líquida (LC, por sus siglas en inglés) – espectrometría de masas (MS, por sus siglas en inglés). Para cada péptido en el tiempo de retención de la muestra, a partir de la cromatografía líquida (LC) así como también de la fragmentación de iones péptidos y masa precisa de alta resolución se adquirió información (información de secuencias de

15 aminoácidos) en la Espectrometría de Masas (MS). Se tomaron cromatogramas de iones extraídos (XIC, por sus siglas en inglés) para los péptidos de interés (iones péptidos nativos y modificados) de los conjuntos de datos en una ventana de ± 10 ppm y se integraron los picos para determinar el área. Se calcularon los

20 porcentajes relativos de modificación para cada muestra tomando el (área del péptido modificado) dividido por (el área del péptido modificado más el área del péptido nativo) multiplicado por 100. Luego se compararon estos porcentajes relativos entre el control (t=0) y las muestras estresadas (t=2 semanas). Los porcentajes mostrados representan el valor control (t=0) restado del valor estresado (t=2 semanas). El análisis de desamidación de anticuerpos hu37D3–

25 H9.v1 y hu37D3–H9.v5 condujo a la observación de que la secuencia N²⁸G²⁹N³⁰ (numeración de Kabat) dentro de la CDR–1 de la cadena ligera era susceptible a

desamidación. El incremento en la N²⁸G²⁹N³⁰ desamidada se encontró que era del 16,5% para hu37D3–H9.v1 y del 11% para hu37D3–H9.v5.

Impacto de la desamidación sobre la unión del anticuerpo al antígeno

5 Para evaluar el impacto de la desamidación de N²⁸ sobre la afinidad para Tau humana, era deseable obtener dos muestras con estado de desamidación de N²⁸ ampliamente separado. Se incubó Hu37D3–H9.v5 hlgG4.S228P a 40°C durante dos semanas a una concentración de 1 mg/ml en Solución Salina Tamponada con Fosfato, pH 7.4. Se midió la desamidación del motivo N²⁸G²⁹ 10 empleando LC–MS/MS. La muestra estresada t = 2 semanas tenía un aumento del 43,1% de desamidación con relación a la muestra no estresada en t = 0. Se analizaron los anticuerpos estresados y sin estresar para la unión a Tau mediante resonancia de plasmón superficial (Biacore) empleando el kit de captura de IgG humana de GE Biacore y un chip CM5 Serie S. Se diluyeron hlgG hasta 2 µg/ml 15 en HEPES 10mM pH7.4, NaCl 150mM, 0,05% Tween 20 (buffer de corrida, HBSP) y se capturaron a una velocidad de flujo de 10 µl/min durante 15 segundos (muestra t0) o 17 segundos (muestra t2). Se recolectaron los datos cinéticos para el monómero de Tau humana inyectado en concentraciones de 0, 3,1, 6,3, 12,5, 25, 25, 50 & 100 nM en HBSP, empleando una velocidad de flujo de 30 µl/min, 20 una fase de asociación de 300 s y una fase de disociación de 1800 s. Entre ciclos se regeneró la superficie empleando una inyección de 30 segundos de Cloruro de Magnesio 3M a 10 µl/min. Se ajustó un modelo de unión 1:1 a los datos empleando errores del instrumento, incluyendo ajuste local del parámetro “RI”. Los resultados mostrados en la Figura 6 y en la Tabla 12 demuestran que si bien 25 el anticuerpo estresado inmovilizado a niveles más altos que el anticuerpo no estresado en este experimento, la magnitud de la señal de unión a Tau (según lo representado por la magnitud del parámetro Rmax) era notablemente inferior.

Después de la normalización del valor R_{max} para las diferencias en el nivel de captura, la muestra estresada (t=2 semanas) parecía mostrar aproximadamente la mitad de la capacidad de unión a Tau total de la muestra no estresada (indicado por una reducción del 56% en el valor R_{max} Normalizado). La afinidad calculada no pareció cambiar: en este análisis, la diferencia en KD entre las muestras en t=0 y las muestras en t=2 semanas era menos del 2% (KD = 0.7nM para t=0 y t=2 semanas). Los resultados son consistentes con la muestra en t=2 semanas que contenía una población significativamente reducida de anticuerpo de alta afinidad.

Tabla 12: Unión relativa de muestras de hu37D3–H9.v5 estresadas y no estresadas a Tau monomérica mediante resonancia de plasmón superficial

muestra de hu37D3–H9.v5 hIgG4.S228P	Nivel de Ligando (UR)	R_{max} (UR)	R_{max} Normalizado (= R_{max} / Nivel de Ligando)	Cambio en R_{max} Normalizado
Control (t=0)	102.9	47.7	0.46	N/A
Estresada (t=2 semanas)	146.8	30.2	0.21	– 56%

Impacto de la desamidación sobre unión del anticuerpo al antígeno y cálculo de “ R_{max} Normalizado”

Dado que se espera que la desamidación de asparagina de como resultado productos de ácido aspártico y ácido iso–aspártico (Bischoff R. & Kolbe H.V.J. (1994). *J. Chromat.* 5, 662, p261–278) se analizó el impacto del reemplazo de N²⁸ con D²⁸ (variante hu37D3–H9.v5 N28D) sobre la afinidad para monómero de Tau humana. Se evaluó la afinidad a 25°C empleando un instrumento Biacore T200, el kit de captura de IgG humana de GE Biacore y un chip CM5 Serie S. Se diluyó la hIgG hasta 2 µg/ml en HEPES 10mM pH7.4, NaCl 150mM, 0,05% de Tween 20 (buffer de corrida, HBSP) y se capturó a una velocidad de flujo de 10 µl/min durante 22 segundos. Se recolectaron los datos cinéticos para el monómero de Tau humana inyectado en concentraciones de 0, 6,3, 12,5, 25, 25, 50, 100, 200, y

400 nM en HBSP, empleando una velocidad de flujo de 30 $\mu\text{l}/\text{min}$, una fase de asociación de 300 segundos y una fase de disociación de 600 segundos. Entre ciclos, se regeneró la superficie empleando una inyección de 30 segundos de Cloruro de Magnesio 3M a 10 $\mu\text{l}/\text{min}$. Se ajustó un modelo de unión 1:1 a los
 5 datos y se calcularon las afinidades para hu37D3–H9.v5 y hu37D3–H9.v5.3 (también denominados en la presente hu37D3–H9.v5 N28D) calculadas empleando análisis cinético. Los parámetros empleados para el ajuste 1:1 incluyeron el error del instrumento de ajuste local para el parámetro “RI”. Los resultados se muestran en la Figura 7 y en la Tabla 13.

10 La K_D calculada para la variante hu37D3–H9.v5 N28D fue $160 \times 10^{-9} \text{ M}$, en comparación con $1,5 \times 10^{-9} \text{ M}$ (media, $n = 4$ determinaciones intra-experimentales) para hu37D3–H9.v5 analizado bajo las mismas condiciones. Por consiguiente, la conversión de N²⁸ a D²⁸ provoca una reducción 100 veces mayor en la afinidad. Dada la afinidad comparativamente baja de la variante hu37D3–
 15 H9.v5 N28D, y la cinética comparativamente rápida, nosotros razonamos que el análisis de la cinética de una mezcla de las variantes N²⁸ y D²⁸ estaría dominado por la población de mayor afinidad, y que la presencia de las variantes de menor afinidad podría verse reflejada por una reducción en el Rmax Normalizado. Para validar este razonamiento, se comparó el perfil de unión a Tau de las variantes de
 20 anticuerpos hu37D3–H9.v5 y hu37D3–H9.v5 N28D con aquel de los dos anticuerpos mezclados entre sí en cantidades iguales. Comparado con hu37D3–H9.v5 por si solo, una mezcla 1:1 de hu37D3–H9.v5 y hu37D3–H9.v5 N28D dio como resultado una reducción del 45% en Rmax Normalizado (Tabla 13). Nuestra conclusión es que los cambios en Rmax Normalizado luego del estrés térmico
 25 pueden ser indicativos de una población reducida de anticuerpo de alta afinidad en la muestra estresada. Nuestro razonamiento es que los cambios en Rmax

Normalizado podrían por ende utilizarse para seleccionar variantes de hu37D3–H9 para estabilidad mejorada.

5 Tabla 13: Cambios en Rmax Normalizado observados luego del estrés térmico de hu37D3–H9.v5 y con la mezcla de hu37D3–H9.v5 con el producto de desamidación anticipado hu37D3–H9.v5 N28D

Muestra	K_D (nM)	Rmax (RU)	Disminución en Rmax Normalizado en comparación con Referencia*	Comentarios
hu37D3–H9.v5 hIgG1	1.5 ± 0.2	76.1 ± 0.4	Referencia	Media +/- Desviación Estándar de cuatro análisis intra- experimentales
hu37D3–H9.v5 N28D hIgG1	160	81.0	4%	
hu37D3–H9.v5 & hu37D3–H9.v5 N28D hIgG1	2.0	46.4	45%	Dos anticuerpos mezclados en una relación 1:1
hu37D3–H9.v5 hIgG4.S228P, t=0	1.5	68.8	3%	Control para muestra estresada
hu37D3–H9.v5 hIgG4.S228P, t=2 semanas	1.5	33.4	54%	Muestra estresada

* Rmax Normalizado = Rmax (UR) /Nivel de Ligando (UR). Rmax Normalizado para el anticuerpo de referencia = 0,33 (media de cuatro determinaciones intra-experimentales, desviación estándar < 0,01).

10

Optimización y selección de anticuerpos

Se evaluaron noventa variantes 37D3-H9 mediante Biacore para comparar su estabilidad funcional con o sin un período de estrés térmico de dos semanas a 40°C. Las variantes incluyeron la mayoría de las mutaciones únicas del motivo

N²⁸G²⁹N³⁰T³¹, mutantes dobles que contenían la mutación G29A, mutaciones dobles de Asn–28 y Tyr–32 que podrían reemplazar funcionalmente a estos a residuos unidos a hidrógeno, así como también todas las posibles permutaciones de los residuos 2, 4, 33, y 93 como ya sea los residuos presentes en el anticuerpo 37D3–H9 original o la correspondiente variante de residuos de línea germinal. Adicionalmente, se analizaron las mutaciones en el contexto del residuo 1 que es Asp o Glu, lo cual no impacta sobre la afinidad o la estabilidad del residuo Asn–28.

Se expresaron los anticuerpos mediante transfección transitoria de células Expi293 en formato de 96 pocillos y se llevó a cabo la purificación automatizada en un sistema de manipulación de líquidos Tecan freedom EVO 200 con una parte superior MCA96 de 500 µL. Brevemente, se capturaron las IgGs en 1 mL de cultivo empleando columnas de punta que estaban empaquetadas a medida con 20 µL de resina MabSelect SuRe (Glygen Corp & GE Healthcare). Después del lavado con 1X PBS pH 7.4, se eluyeron las IgGs en 160 µL de ácido fosfórico 50 mM pH 3 y se neutralizaron con 12 µL de 20X PBS pH 11. Las columnas de punta MabSelect SuRe se sometieron a stripping en NaOH 0.1 M y se regeneraron con 1X PBS pH 7.4 para el uso consecutivo de hasta 15 veces. Los anticuerpos purificados en formato de 96 pocillos se normalizaron hasta 0,1 mg/ml empleando un robot de manipulación de líquidos Hamilton Star. Las muestras “pre–estresadas” se mantuvieron a aproximadamente 4°C y las muestras “pos–estresadas” se incubaron a 40°C durante dos semanas en una máquina de PCR. Se comparó la estabilidad funcional de las variantes llevando a cabo experimentos de cinética de resonancia de plasmón superficial con las preparaciones de anticuerpos “pre–estresadas” y “pos–estresadas”. Se evaluaron los anticuerpos empleando un chip Serie S CM5 de captura de anticuerpos humanos generado empleando el kit de captura de IgG humana de GE Biacore y

un instrumento Biacore T200. Se inmovilizaron los anticuerpos diluidos hasta 2 $\mu\text{g/ml}$ empleando un tiempo de inyección de 15 segundos y una velocidad de flujo de 10 $\mu\text{l/min}$. Se monitoreó la unión a monómero de Tau a 0 nM, 26,5 nM y 265 nM, a 25°C, empleando una velocidad de flujo de 40 $\mu\text{l/min}$, para una fase de asociación de 180 segundos seguida por una fase de disociación de 300 segundos. Las muestras se corrieron en HEPES 10mM pH7.4, NaCl 150mM, 0,05% de Tween 20 (HBSP) empleando un formato de cinética de múltiples ciclos. Se analizaron los datos empleando un programa informático BIAevaluation, que se ajusta a un modelo de unión 1:1. Los valores de afinidad resultantes (K_D) son mostrados en la Figura 8A-D. También se calculó un Índice de Estabilidad, empleando el razonamiento de que se espera que los anticuerpos con afinidad comprometida (debido por ejemplo a la desamidación de residuos claves) contribuyan de igual manera con el nivel de captura de IgG (“Nivel del Ligando”) aunque se espera que contribuyan menos con la unión medida a Tau, y que esto se vería reflejado en el valor derivado experimentalmente para R_{max} . Para dar cuenta de las variaciones en la cantidad de cada anticuerpo capturado, se normalizó R_{max} para el nivel de captura de anticuerpos (según lo medido por “Nivel de Ligando”, Unidades de Respuesta inmovilizadas durante la captura de los anticuerpos). Por lo tanto, se calcula R_{max} Normalizado como el R_{max} experimental (unidades=UR) dividido por el “Nivel de Ligando” (Resultado de la Evaluación que representa las UR capturadas durante la etapa de captura de hIgG, unidades=UR), y se calcula el Índice de Estabilidad aquí como R_{max} Normalizado (pos-estrés) dividido por R_{max} Normalizado (pre-estrés).

Se expresaron los anticuerpos seleccionados mediante transfección transitoria de células CHO y se purificaron. Luego, se estresaron los anticuerpos durante dos semanas a 1 mg/ml y se analizó la desamidación mediante LC-MS/MS, empleando mapeo de péptidos tríptico RCM con reducción de DTT,

proceso de “capping” (caperuza) de IAA y digestión a pH 8.2. Los resultados (Tabla 14) demostraron que la variante hu37D3–H9.v28.A4 tenía susceptibilidad reducida a la desamidación en el motivo N²⁸G²⁹N³⁰. La reducción de la desamidación de hu37D3–H9.v28.A4 fue inesperada, ya que el residuo no está
5 situado en la proximidad inmediata del residuo Asn–28 (Figura 9) y no queda claro cómo la mutación F33L podría estabilizar Asn–28.

Tabla 14: Estabilidad de las variantes hu37D3–H9.v28.A4 en ensayos de estrés para desamidación

Anticuerpo		Condiciones de Estrés Térmico	Aumento en la desamidación de cadena ligera N ²⁸ G ²⁹ N ³⁰
hu37D3–H9.v1	hIgG1	40°C en Buffer de Acetato, pH 5.5	16.5%
hu37D3–H9.v5	hIgG1	40°C en Buffer de Acetato, pH 5.5	11%
hu37D3–H9.v28.A4	hIgG1	40°C en Buffer de Acetato, pH 5.5	N ²⁸ : 2.8% N ³⁰ : 0.2%
		37°C en PBS pH 7.4	N ²⁸ : 5.3% N ³⁰ : ND
	hIgG4.S228P.YTE	40°C en Buffer de Acetato, pH 5.5	N ²⁸ : 0% N ³⁰ : 0%
		37°C en PBS pH 7.4	N ²⁸ : 10.4% N ³⁰ : 2.0%

Ejemplo 6: Selección y Caracterización de Anticuerpos Anti-Tau Humanizados

Selección y caracterización de anticuerpos: unión a la proteína Tau humana

- 5 Se evaluó la afinidad de los anticuerpos seleccionados a 25°C empleando un instrumento Biacore T200, el kit de captura de IgG humana GE Biacore y un chip Serie S CM5. Se diluyó la hIgG hasta 0,25 µg/ml en HEPES 10mM pH7.4, NaCl 150mM, 0,05% de Tween 20 (buffer de corrida, HBSP) y se capturó a una
- 10 velocidad de flujo de 10 µl/min durante 150 segundos. Se recolectaron los datos cinéticos para monómero de Tau humana inyectado en concentraciones de 0, 0,4, 1,2, 3,7, 11, 11, 33 y 100 nM en HBSP, empleando una velocidad de flujo de 30 µl/min, una fase de asociación de 300 segundos y una fase de disociación de 600 segundos. Entre ciclos, se regeneró la superficie empleando dos inyecciones consecutivas de 30 segundos de MgCl 3M a 10 µl/min. Se ajustaron los datos a
- 15 un modelo de unión 1:1 (Tabla 15).

Tabla 15: Datos cinéticos para variantes seleccionadas de anticuerpos anti-Tau humanizados

Anticuerpo	Isotipo	K _D (nM)	k _{on} (1/Ms)	k _{off} (1/s)
hu37D3–H9.v28.A4	hIgG1	1.5	6.9×10^5	1.1×10^{-3}
hu37D3–H9.v5	hIgG1	1.0	7.5×10^5	0.8×10^{-3}
hu37D3–H9.v5	hIgG4.S228P	1.3	7.1×10^5	0.9×10^{-3}
hu37D3–H9.v1	hIgG4.S228P	2.0	6.7×10^5	1.3×10^{-3}

Caracterización de anticuerpos: Unión a proteína Tau humana en formato hIgG4.S228P.YTE

Se evaluó la afinidad a 25°C empleando un instrumento Biacore T200, el kit de captura de FAb humanos GE Biacore y un chip CM5 Serie S. Se diluyó hIgG hasta 0,5 µg/ml en HEPES 10mM pH7.4, NaCl 150mM, 0,05% de Tween 20 (buffer de corrida, HBSP) y se capturó a una velocidad de flujo de 10 µl/min durante 180 segundos. Se recolectaron los datos cinéticos para el monómero de Tau humana inyectado en concentraciones de 0, 0,4, 1,2, 3,7, 11, 11, 33 y 100 nM en HBSP, utilizando una velocidad de flujo de 30 µl/min, una fase de asociación de 300 segundos y una fase de disociación de 600 segundos. Entre ciclos se regeneró la superficie empleando dos inyecciones consecutivas de 60 segundos de Glicina 10 mM pH 2.1. Se ajustaron los datos a un modelo de unión 1:1. Los datos cinéticos son mostrados en la Tabla 16.

Tabla 16: Cinética de unión de hu37D3–H9.v28.A4 hIgG4.S228P.YTE a Tau humana monomérica mediante resonancia de plasmón superficial

Anticuerpo	Preparación de anticuerpos	K _D (nM)	k _{on} (1/Ms)	k _{off} (1/s)
hu37D3–H9.v28.A4 hIgG4.S228P.YTE	Prep 1	1.4	6×10^5	9×10^{-4}
	Prep 2	1.4	6×10^5	$\times 10^{-4}$

Caracterización de anticuerpos: Unión a proteína Tau de mono cynomolgus

Se evaluó la afinidad a 25°C empleando un instrumento Biacore T200, el kit de captura de IgG humana de GE Biacore y un chip CM5 Serie S. Se diluyó hIgG hasta 2 µg/ml en HEPES 10mM pH7.4, NaCl 150mM, 0,05% Tween 20 (buffer de corrida, HBSP) y se capturó a una velocidad de flujo de 10 µl/min durante 15 segundos. Se recolectaron los datos cinéticos para monómero de Tau humana inyectado a un mínimo de cinco concentraciones no cero diferentes entre 1,2 y

100 nM, con una concentración de replicación. Se evaluó la cinética utilizando una velocidad de flujo de 30 $\mu\text{l}/\text{min}$, una fase de asociación de 300 segundos y una fase de disociación de 600 segundos. Entre ciclos, se llevó a cabo una inyección de regeneración de 30 segundos de Cloruro de Magnesio 3M a una velocidad de flujo de 10 $\mu\text{l}/\text{min}$. Los resultados se ajustaron a un modelo de unión 1:1. En la Tabla 17 se muestran los datos cinéticos.

Tabla 17: Afinidad de anticuerpos anti-Tau humanizados para Tau de mono cynomolgus monomérica

Anticuerpo	Nivel de Ligando (UR)	R _{max} (UR)	K _D (nM)	k _{on} (1/Ms)	k _{off} (1/s)
hu37D3.v28.A4	113.9	62.6	0.7	17×10^5	1×10^{-3}
hu37D3.v28.F1	126.9	61.2	1.3	12×10^5	2×10^{-3}
hu37D3.v28.A12	162.6	85.2	1.0	17×10^5	2×10^{-3}
hu37D3.v29.2	168.6	86.0	1.4	17×10^5	2×10^{-3}
hu37D3-H9.v5	125.1	55.5	0.6	15×10^5	1×10^{-3}
hu37D3-H9.v1	130.2	51.7	0.8	20×10^5	1×10^{-3}

Los anticuerpos humanizados hu37D3.v28.A4 y hu37D3.v28.F1 también se unen a Tau fosforilada (pTau).

Ejemplo 7: Farmacocinética de Anticuerpo Anti-Tau

Para evaluar la farmacocinética del anticuerpo anti-Tau 37D3-H9 mIgG2a *in vivo*, se les administró a ratones C57BL6 una sola inyección de bolo intravenosa (IV) o intraperitoneal (IP) en una dosis de 10 mg/kg a ratones conscientes. En diversos puntos de tiempo hasta 28 días posdosis, se recolectaron muestras de plasma para determinar las concentraciones de anticuerpo anti-Tau.

Se midieron las concentraciones del anticuerpo dosificado en plasma de ratón con un ELISA genérico empleando una cubierta de anticuerpo anti-mulG2a de ratón, seguido por la adición de muestras de plasma comenzando a una dilución de 1:100, y terminando mediante el agregado de un conjugado de anti-mulG2a de ratón-biotina, y luego estreptavidina conjugada a peroxidasa de rábano picante para detección. El ensayo tenía un rango de curva estándar de 1,56–200 ng/mL y un límite de detección de 0,16 µg/mL. Los resultados por debajo de este límite de detección fueron informados como menos de lo reportable (LTR, por sus siglas en inglés).

La Figura 10 muestra los resultados del análisis farmacocinético para anti-Tau 37D3-H9 mlgG2a. Anti-Tau 37D3-H9 mlgG2a tenía exposición y evacuación similares en ratones C57BL6 tipo salvaje como anticuerpos controles del isotipo, con una evacuación de 6,31 mL/día/kg.

Para evaluar la farmacocinética de 94B2-C1 mlgG2a anti-Tau y 125B11-H3 mlgG2a anti-Tau *in vivo*, se administró una única inyección de bolo IP de anticuerpo en una dosis de 10 mg/kg a ratones C57BL6 conscientes. En diversos puntos temporales hasta 28 días posdosis, se recolectaron muestras de plasma para determinar las concentraciones de anticuerpo anti-Tau.

Las concentraciones del anticuerpo dosificado en plasma de ratón se midieron con un ELISA genérico empleando una cubierta de anticuerpo anti-mulG2a de ratón, seguido por la adición de las muestras de plasma comenzando a una dilución de 1:100, y terminando mediante el agregado de un conjugado de anti-mulG2a de ratón-biotina, y luego estreptavidina conjugada a peroxidasa de rábano picante para detección. El ensayo tenía un rango de curva estándar de 0,78–100 ng/mL y un límite de detección de 0,078 µg/mL. También se midieron las concentraciones con un ELISA específico empleando Tau recombinante como la cubierta, seguido por la adición de muestras de plasma comenzando a una

dilución de 1:10, y terminando mediante el agregado de anti-mIgG2a de cabra conjugado a peroxidasa de rábano picante para detección. El ensayo tenía un rango de curvas estándares de 0,078–10 ng/mL y un límite de detección de 0,0008 µg/mL. Los resultados por debajo de este límite de detección fueron
5 informados como menos de lo reportable (LTR).

Los resultados de esos experimentos son mostrados en las Figuras 16 y 17. 94B2 mIgG2a Anti-Tau tenía exposición y evacuación similares en ratones C57BL6 del tipo salvaje como un anticuerpo control de isotipo cuando se analizaron las concentraciones empleando un ensayo genérico, pero exposición
10 inferior y evacuación más rápida cuando se analizaron las concentraciones empleando un ensayo específico. Ver la Figura 16. La evacuación determinada por el ensayo genérico era de 4,06 mL/día/kg y la determinada por el ensayo específico era de 7,53 mL/día/kg. Estos resultados sugieren que el anticuerpo sufre cambios *in vivo* con el transcurso del tiempo que comprometen su
15 capacidad de reconocer su objetivo. 125B11-H3 mIgG2a Anti-Tau tenía exposición y evacuación similares en ratones C57BL6 del tipo salvaje como un anticuerpo control de isotipo, sin importar cual ensayo generó las concentraciones. Ver la Figura 17. La evacuación determinada por el ensayo genérico es 4,96 mL/día/kg y la determinada por el ensayo específico es de 4,90
20 mL/día/kg.

La Tabla 18 muestra los parámetros farmacocinéticos para anticuerpos anti-Tau 37D3-H9, 94B2-C1, y 125B11-H3 en ratones.

Tabla 18: Parámetros farmacocinéticos para anticuerpos anti-Tau

	ruta de administración	Ensayo	Cmax (µg/mL)	AUCinf (µg/mL*día)	CL o CL/F (mL/día/kg)
37D3-H9	IV	Genérico	185	1590	6.31
	IP	Genérico	107	1680	6.76
94B2-C1	IP	Genérico	151	2460	4.06
	IP	Específico	141	1330	4.91
125B11-H3	IP	Genérico	127	2020	4.96
	IP	Específico	151	2040	4.90

Para evaluar la farmacocinética de los anticuerpos hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P y hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE *in vivo*, monos cynomolgus (Macaca fascicularis) recibieron administraciones de una inyección de bolo IV única a una dosis de 1 mg/kg a monos conscientes. En distintos puntos temporales hasta 49 días posdosis, se recolectaron muestras de plasma para determinar las concentraciones de anticuerpo anti-Tau.

Las concentraciones del anticuerpo dosificado en plasma de mono se midieron con un ELISA genérico empleando una cubierta de anticuerpo anti IgG humana de oveja, seguido por la adición de muestras plasmáticas comenzando a una dilución de 1:100, y terminando mediante el agregado de IgG anti-humana de cabra conjugada a peroxidasa de rábano picante para detección. El ensayo tenía un rango de curvas estándares de 0,156–20 ng/mL y un límite de detección de 0,02 µg/mL. Los resultados por debajo de este límite de detección fueron informados como menos de lo reportable (LTR).

La Figura 11 muestra los resultados del análisis farmacocinético para hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P y hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE. En la Figura 11, cada conjunto de puntos de datos representa un animal y las líneas representan el promedio para todos los animales en el grupo de ensayo de anticuerpos. La Tabla 19 muestra los parámetros farmacocinéticos para

hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P y hu37D3.v28.A4 hIgG4–S228P.YTE en monos cynomolgus.

Tabla 19: Parámetros farmacocinéticos para hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P y hu37D3.v28.A4 hIgG4–S228P.YTE en monos cynomolgus

5

Anticuerpo	Ensayo	Cmax ($\mu\text{g/mL}$)	AUCinf ($\text{día} \cdot \mu\text{g/mL}$)	CL (mL/día/kg)	Vss (mL/kg)
anti-gD hIgG4	Genérico	34.6	386	2.66	55.5
hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P	Genérico	35.7 ± 2.59	559 ± 209	1.97 ± 0.743	71.9 ± 16.0
	Específico	35.4 ± 1.37	419 ± 89.9	2.47 ± 0.581	60.8 ± 3.49
hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P.YTE	Genérico	34.5 ± 5.23	578 ± 43.5	1.74 ± 0.125	60.5 ± 1.87
	Específico	33.5 ± 2.72	520 ± 39.0	1.93 ± 0.139	56.5 ± 4.90

Ejemplo 8: Caracterización Adicional de Epítomos de Anticuerpo Anti-Tau

10 Siguiendo una comparación de unión de 37D3-H9 a monómero de Tau biotinilada y péptido biotinilado (MAPT_10–24), también se evaluó la unión de 37D3-H9 a péptidos biotinilados adicionales. Se recubrieron microplacas de 96 pocillos Nunc maxisorp a 4°C durante > 12 horas con Neutravidina diluida hasta 2 $\mu\text{g/mL}$ en Buffer de Carbonato Sódico 50 mM, pH 9.6. Se llevaron a cabo todas las incubaciones subsiguientes a temperatura ambiente. Después del recubrimiento,

15 las placas se bloquearon con Buffer de Bloqueo Superblock™ (PBS) (Thermo Fisher Scientific) durante dos horas y luego se lavaron vigorosamente con PBS, 0,05% de Polisorbato 20. Luego los pocillos fueron expuestos a péptidos Tau biotinilados (Tabla 20) o monómero Tau biotinilado con etiqueta Avi a 1 $\mu\text{g/mL}$ durante una hora y se lavó como anteriormente. Se sintetizaron los péptidos

20 empleando química Fmoc de fase sólida convencional (*ver, por ej.*, Fmoc solid phase peptide synthesis: A practical approach; Chan, W. C., White, P. D., Eds.; Oxford University Press: New York, 2000). Los anticuerpos 37D3–H9 mIgG2a y hu37D3–H9.v5 hIgG1, diluidos en serie de 500 nM a 50 pM en 90% Buffer de

- Bloqueo Superblock™ (PBS), se dejaron unir a los pocillos recubiertos con Tau biotinilada durante 90 minutos. Se lavaron los pocillos como anteriormente y se detectó el anticuerpo unido con anticuerpo secundario conjugado a peroxidasa (Invitrogen / Life Technologies) diluido 1/1000 en Buffer de Bloqueo Superblock™ (IgG anti-Ratón de Conejo o IgG anti-Humana de Cabra (H+L) respectivamente).
- Después de veinte minutos se lavaron los pocillos como anteriormente y se desarrolló una señal con Sustrato de 2 Componentes de Micropocillos TMB Microwell 2–Component Substrate (KPL). Se pararon las reacciones mediante la adición de Acido Fosfórico 1M y se midió la absorbancia a 450 nm con una lectora de placas SpectraMax M2.

Tabla 20: Secuencias de Péptidos

MAPT secuencia	Secuencia de péptidos	SEC ID NO:
MAPT(10–24)	VMEDHAGTYGLGDRK	592
MAPT(2–24)	AEPRQFEVMEHDHAGTYGLGDRK	593
MAPT(2–34)	AEPRQFEVMEHDHAGTYGLGDRKDQGGYTM HQD	594
MAPT(10–44)	VMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDT DAGLK	595

- Los resultados de ese experimento se muestran en la Figura 12. La Figura 12A muestra la unión de cada uno de los anticuerpos indicados para los péptidos indicados. Los anticuerpos 37D3-H9 y 94B2-C1 ambos mostraron fuerte unión al fragmento 10-24 en ese experimento, y el anticuerpo 94B2-C1 también mostró una fuerte unión al fragmento 1-15. Los anticuerpos 19F8-C11 y 123E9-A1 mostraron fuerte unión al fragmento 19-33, mientras que el anticuerpo 89F4-A1 mostró fuerte unión a los fragmentos 28-42 y 37-51. Ver la Figura 12A. Los anticuerpos 37D3–H9 mIgG2a y hu37D3–H9.v5 hIgG1 ambos mostraron fuerte

unión a fragmentos Tau 2–24 y 2–34 y unión más débil al fragmento 10–24. Ver las Figuras 12B y 12C. Estos resultados sugieren que los anticuerpos 37D3–H9 mlgG2a y hu37D3–H9.v5 hlgG1 se unen a un epítipo de Tau dentro de los aminoácidos 2–24 de la proteína madura.

- 5 En un experimento de sustitución con barrido con alanina, se descubrió que las mutaciones Y18A y L20A anulan la unión por el anticuerpo murino 37D3-H9 a un fragmento de Tau (fragmento 2-21), sugiriendo que el anticuerpo contacta estos residuos de Tau. Empleando una serie de péptido offset de 15 meros, se descubrió que el anticuerpo murino 37D3-H9 mostró unión similar al fragmento 9-23 que al fragmento 10-24, y también mostró unión moderada a los fragmentos 7-21, 8-22 y 11-25.

Ejemplo 9: Caracterización basada en células de anticuerpos humanizados 37D3-H9

15 Métodos

Cultivo primario de hipocampo y microglías y cocultivo hipocampal–microglial

- Se prepararon neuronas de hipocampo primarias disociadas de ratones embrionicos C57BL/6N tipo salvaje del día 16-17. Se colocaron en placas células sobre portaobjetos de cámara de 8 pocillos recubiertas con PDL/laminina (Biocoat, 354688 Corning) a 25.000 células/ pocillo. Las células se colocaron en placas y se mantuvieron en NbActiv4 (BrainBits) y se reemplazó la mitad del medio dos veces por semana. Se aplicaron tau recombinante y anticuerpos al cultivo en 18 divisiones celulares.

- 25 Para el cultivo de microglía, se disociaron cortezas e hipocampos de ratones C57BL/6N de día 1-2 posnatal y se cultivaron en 10% FBS en DMEM en frascos de cultivo de 225 mm² durante 10–12 días. Se agitaron suavemente los

frascos de cultivo para disociar la microglía y las células en 10% FBS en DMEM se replaquearon sobre portaobjetos de cámara de 8 pocillos recubiertas con PDL/laminina a 30.000 células /pocillo para toma de imágenes o placas de 48 pocillos sin recubrir (3548, Corning) a 100.000 células/pocillo para ensayo de citoquina. 4–5 horas después de la colocación en placas, se cambiaron las células a DMEM de bajo contenido de glucosa y libre de suero y se mantuvieron durante toda la noche antes del tratamiento con tau recombinante y anticuerpos.

Se prepararon cocultivos de hipocampo – microglia colocando nuevamente en placas microglia disociada de frascos de cultivo de 225 mm² sobre 18 neuronas primarias de hipocampo DIV en cámaras de portaobjetos de 8 pocillos (12.500 microglías y 25.000 neuronas por cada pocillo). Se trataron los cocultivos con tau recombinante y anticuerpos 4 horas después del plaqueo de las microglías.

Tratamiento in vitro de tau recombinante y anticuerpos

Para 18 cultivos de hipocampo DIV o cocultivos de hipocampo- microglía, tau oligomérica humana recombinante y anticuerpos (500 nM cada uno en una relación 1:1) o controles se preincubaron en medio de cultivo neuronal (medio acondicionado de 18DIV cultivo de hipocampo: NbActiv4 fresco a 1:1) durante 1 hora a 37°C antes de ser agregados a las células. Se incubaron las células con la mezcla de tau–anticuerpo o control en el medio durante 72 horas (cultivo de hipocampo) o 48 horas (cocultivo de hipocampo–microglía). Se lavaron las células con PBS tres veces antes de la fijación.

Para el cultivo de microglías, se preincubaron tau oligomérica humana recombinante y anticuerpos o controles a 125 nM cada uno (inmunocitoquímica/toma de imágenes) o 250 nM cada uno (ensayo con citoquinas) en DMEM de bajo contenido de glucosa en ausencia de suero durante 1 hora a 37°C con anterioridad a la adición a las células. Para la

inmunocitoquímica/ toma de imágenes, se incubaron las células con la mezcla de tau-anticuerpo o con los controles durante 10 minutos y se lavaron tres veces con PBS antes de la fijación. Para el ensayo con citoquinas, se incubaron las células con la mezcla de tau- anticuerpo o control durante 24 horas y se recolectó el medio de cada pocillo para el ensayo con citoquinas.

Inmunocitoquímica, imágenes y cuantificación

Se fijaron las células con 4% de paraformaldehído en PBS durante 15 min y se permeabilizaron con 0,1% de Triton X-100 en PBS durante 10 minutos. Se utilizó 10% suero de burro para el bloqueo y se incubaron las células con anticuerpos primarios en PBS durante toda la noche a 4°C, seguido por incubación con anticuerpos secundarios etiquetados con fluoróforo Alexa contra especies apropiadas desarrolladas en burro (Invitrogen). Los anticuerpos primarios empleados eran anti-tau (DAKO), anti tau humana de conejo desarrollados contra la región N terminal de tau humana que abarca a los aminoácidos 11-24, anti-MAP2 (ab5392, Abcam), y anti-Iba-1 (ab5076, Abcam). Los portaobjetos se montaron con Prolong Gold DAPI (P36935, Invitrogen) y cubreobjetos no.1.

Se realizó una toma de imágenes fluorescentes confocal con un LSM780 (Carl Zeiss, Inc.) empleando el programa informático Zen 2010 (Carl Zeiss, Inc.). Para la toma de imágenes de cultivos de hipocampo y cocultivos hipocampales-microgliales, se recolectaron 5 pilas de imágenes z en intervalos de 0,98 μm empleando objetivos Plan Apochromat 20x/0.8 M27. Para el ensayo de fragmentación de MAP2, se creó una proyección z de intensidad máxima para una pila de imágenes y se analizó empleando Metamorph (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Se utilizaron un filtro mediano y deconvolución del vecino más próximo para la reducción del ruido. Se analizaron las longitudes de cuerpos celulares y neuritas empleando el módulo de crecimiento neurítico seguido por el

procesamiento morfológico. Se normalizaron los fragmentos con menos de 15 píxeles (6,225 μm) a la longitud total de la señal para obtener una medida de la fragmentación de MAP2.

Se tomaron imágenes de las microglías con el objetivo α -Plan Apochromat 100x/1.46 M27. Se realizó la cuantificación de la captación de tau recombinante en las células con la Imagen J (1.43u, 64-bit, National Institute of Health). Se dibujaron manualmente ROIs del área celular empleando la señal Iba-1 como referencia. Se midieron el área y la intensidad integrada de la inmunorreactividad de tau de ROI para obtener la inmunorreactividad de tau normalizada al área. Se llevaron a cabo todos los análisis sin conocer las condiciones experimentales.

Resultados

Los resultados del experimento se muestran en la Figura 13. Como se muestra en la Figura 13A, los anticuerpos con función efectora completa no protegían contra la toxicidad de Tau en los cocultivos de neuronas- microglías. La Figura 13B muestra imágenes de cocultivos de neuronas- microglías contactados con Tau oligomérica y anticuerpos (paneles inferiores). Los anticuerpos 37D3-H9 hIgG4 y hu37D3-H9 hIgG1 (N297G), los cuales carecen de función efectora, eran protectores contra la toxicidad de Tau, mientras que 37D3-H9 hIgG1 no lo era.

Ejemplo 10: Reducción dependiente de la dosis de la patología de Tau en ratones Tau Tg a los cuales se les administra 37D3-H9 IgG2a o 37D3-H9 IgG2a DANG

Se mantuvieron ratones transgénicos que expresan Tau humana P301L bajo el promotor Thy1 (Tau P301L-Tg) sobre un background de C57BL/6N (Charles River). Se asignaron ratones compañeros de jaula Tau P301L-Tg y tipo

salvaje a grupos de tratamiento y recibieron dosis una vez a la semana por vía intraperitoneal (i.p.) con IgG2a-control (anti-gp120) a 30 mg/kg, anti-tau 37D3-H9 WT IgG2a a 3, 10 o 30 mg/kg, anti-tau 37D3-H9 DANG IgG2a a 3, 10 o 30 mg/kg. DANG se refiere a mutaciones D265A/N297G en IgG2a, las cuales anular la función efectora. Se prepararon todas las soluciones de dosificación de anticuerpo en histidina 10 mM pH 5.8, 6% sacarosa, 0.02% Tween 20 en una concentración de 10 mg/ml. El tratamiento comenzó a 13 semanas de edad. Los grupos de ratones en el estudio *in vivo* eran machos y agrupados en 3 cohortes. Por añadidura, se recolectaron 3 ratones TauP301L-Tg a la edad de 3 meses sin pasar por ningún tratamiento a fin de determinar el nivel de referencia de la patología en el momento del inicio del tratamiento.

Para recolectar tejido, los ratones fueron anestesiados con 2,5% de tribromoetanol (0,5ml per 25g de peso corporal) y fueron sometidos a perfusión transcardíaca con PBS. Se recogieron los cerebros y se bisecaron. Los hemisferios derechos se fijaron en paraformaldehído al 4% durante toda la noche a 4°C luego se transfirieron a solución salina tamponada con fosfato con anterioridad al procesamiento para inmunohistoquímica. Los hemisferios izquierdos fueron sub-disecados sobre hielo luego se congelaron a -80°C para el análisis bioquímico. Se tomaron muestras de la cola de todos los ratones para confirmar los genotipos.

Mitades de cerebros verticalmente diseccionados se incrustaron en forma múltiple en una matriz de gelatina empleando bloques MultiBrain® (NeuroScience Associates, Knoxville, TN) y se seccionaron coronalmente a 25 µm de espesor. Dentro de cada bloque, la posición del cerebro se aleatorizó con relación al genotipo y al tratamiento. Secciones de flotación libre de mitades de cerebro de ratones individuales o de bloques MultiBrain® se colorearon según lo descrito previamente (Le Pichon et al., 2013, PLoS One, 8(4): e62342), pero con lavados

en PBS en lugar de solución salina tamponada con Tris e incubaciones de anticuerpos primarios a 4°C en lugar de temperatura ambiente. El anticuerpo primario era anti-pTau212/214 de conejo (generado internamente; 0,01 µg/ml). Para evitar una elevada coloración del background, en el caso de los anticuerpos primarios de ratón que eran específicos del subtipo, nosotros empleamos el correspondiente anticuerpo secundario específico del subtipo (por ejemplo, IgG3 anti-ratón biotinilada, Bethyl A90–111B).

Se tomaron imágenes de los portaobjetos inmunohistoquímicamente coloreados empleando el sistema de barrido de portaobjetos enteros Leica SCN400 (Leica Microsystems; Buffalo Grove, IL) a una amplificación de 200x con una resolución de 0,5 µm/píxeles. Se dibujaron manualmente las regiones de interés (ROIs, por sus siglas en inglés) en 4 niveles de hipocampo coincidentes por cada animal, y se cuantificó la cantidad de coloración en estas ROIs en forma automatizada empleando los dos puntos de referencia descritos a continuación. Todos los análisis de las imágenes se realizaron sin conocer cuales eran los grupos de tratamiento y de genotipo (ciego). Para el análisis positivo del área de píxeles para la cuantificación de manchas IHC, se analizaron las imágenes digitales de las secciones de cerebro marcadas con anticuerpo según lo descrito anteriormente (Le Pichon et al., 2013). Se calculó el porcentaje de área coloreada normalizando los píxeles positivos totales al área total de píxeles de la ROI. Se calculó la intensidad integrada empleando la ley de Beer–Lambert, $absorbancia = -\log(intensidad \text{ luminosa transmitida} / intensidad \text{ luminosa incidente})$, para las áreas de píxeles positivos solamente.

Los resultados de ese experimento se muestran en la Figura 14. La administración de IgG2a tipo salvaje (WT) 37D3-H9 anti-tau o IgG2a DANG 37D3-H9 anti-tau dio como resultado una reducción dependiente de la dosis de pTau212/214 en el hipocampo.

Ejemplo 11: variantes kappa 1 de 37D3-H9 humanizados

Variantes de anticuerpos humanizados basados en hu37D3-H9.v1, que tiene una cadena ligera kappa 1, se prepararon y se analizaron para determinar la estabilidad de N²⁸. En la Figura 18 se muestra un alineamiento de la región variable de cadena ligera de las tres variantes analizadas con hu37D3-H9.v1. Las tres variantes difieren entre sí en la región variable de cadena ligera: hu37D3.v39 contiene la mutación F33L, hu37D3.v40 contiene la mutación G29T y hu37D3.v41 contiene la mutación N30Q.

Se estresaron térmicamente las muestras de anticuerpos, de la siguiente manera. Se intercambió el buffer de las muestras a acetato de histidina 20mM, sacarosa 240mM, pH 5.5 y se diluyó hasta una concentración de 1 mg/ml. Se estresó un ml de muestra a 40°C durante 2 semanas y se almacenó una segunda a -70°C como un control. Luego, ambas muestras se digirieron utilizando tripsina para crear péptidos que pudieron ser analizados empleando análisis de cromatografía líquida (LC) – espectrometría de masas (MS). Para cada péptido en el tiempo de retención de la muestra, de la LC así como también de la información de la fragmentación iónica de péptidos y masa exacta a alta resolución (información de secuencia de aminoácidos) se adquirieron en la MS. Se tomaron cromatogramas de iones extraídos (XIC) para los péptidos de interés (iones de péptidos nativos y modificados) a partir de los conjuntos de datos en una ventana de ± 10 ppm y se integraron los picos para determinar el área. Se calcularon los porcentajes relativos para cada muestra tomando el (área del péptido modificado) dividida por el (área del péptido modificado más el área del péptido nativo) multiplicado por 100. Luego, se compararon estos porcentajes relativos entre el control (t=0) y las muestras estresadas (t=2semanas). Los porcentajes mostrados representan el

valor de control (t=0) sustraído del valor estresado (t=2semanas). En la Tabla 21 se muestran los resultados. Los resultados demuestran que la mutación F33L es eficaz para reducir la desamidación en una cadena ligera humanizada kappa 1.

- 5 Tabla 21 – Estabilidad de las variantes de hu37D3-H9.v1 en ensayos de estrés para desamidación.

Anticuerpo		Incremento en la desamidación de cadena ligera N ²⁸ G ²⁹ N ³⁰
hu37D3.v39	hIgG4.S228P.YTE	N ²⁸ : 2.7 % N ³⁰ : Sin incremento significativo detectado
hu37D3.v40	hIgG4.S228P.YTE	N ²⁸ : 12.1 % N ³⁰ : 3.9 %
hu37D3.v41	hIgG4.S228P.YTE	N ²⁸ : 6.0 % N ³⁰ : Residuo reemplazado con glutamina

- Se midió la afinidad de las variantes de anticuerpos humanizados a 25°C empleando un instrumento Biacore T200, el kit de captura de Fab humano GE Biacore, y un chip CM5 Serie S. Se diluyeron los anticuerpos hasta 1 µg/ml en HBSP (10mM HEPES pH7.4, 150mM NaCl, 0.05% Tween 20) y se capturaron a una velocidad de flujo de 10 µl/min durante 180 segundos. Se recolectaron los datos cinéticos para el monómero de Tau humano inyectado a 1.2, 3.7, 11, 33 y 100 nM en HBSP empleando la metodología de Cinética de Ciclo Único (Single Cycle Kinetics methodology) y una velocidad de flujo de 30 µl/min. Se inyectó cada concentración de monómero de Tau durante un período de 3 minutos y se monitoreó la disociación durante diez minutos. Entre ciclos, se regeneró la superficie con dos inyecciones de un minuto consecutivas de glicina 10 mM pH2.1. Se ajustó la información a un modelo de unión 1:1 empleando el programa informático

BIAEvaluation. Se analizó cada anticuerpo dos veces dentro del experimento; los datos en la Tabla 22 se muestran como media $\pm$ rango.

Tabla 22: Afinidades de variantes de hu37D3-H9.v1 para Tau monomérica

	K_D (nM)	k_{on} (1/Ms)	K_{off} (1/s)
hu37D3.v1 hIgG1	2.3 ± 0.3	$6 \pm 0.5 \times 10^5$	$1 \pm 0.1 \times 10^{-3}$
hu37D3.v1 hIgG4	2.3 ± 0.3	$6 \pm 0.2 \times 10^5$	$1 \pm 0.1 \times 10^{-3}$
hu37D3.v39 hIgG4.YTE	1.9 ± 0.2	$6 \pm 0.6 \times 10^5$	$1 \pm 0.02 \times 10^{-3}$
hu37D3.v40 hIgG4.YTE	4.4 ± 0.5	$8 \pm 0.9 \times 10^5$	$3 \pm 0.02 \times 10^{-3}$
hu37D3.v41 hIgG4.YTE	5.4 ± 0.3	$9 \pm 1.2 \times 10^5$	$5 \pm 0.3 \times 10^{-3}$

5 Ejemplo 12: Farmacocinética y farmacodinámica de hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P y hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE en monos cynomolgus

Para evaluar la farmacocinética y la farmacodinámica de los anticuerpos hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P y hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE *in vivo*, se administraron a cinco monos cynomolgus conscientes (*Macaca fascicularis*) por grupo una única inyección por bolo IV a una dosis de 50 mg/kg en la primera fase. Se utilizó hIgG4 anti-gD como un control, también a una dosis de 50 mg/kg. En diversos puntos temporales hasta 35 días pos dosis, se recolectaron muestras de plasma y CSF para determinar las concentraciones de anticuerpos anti-Tau. Después de la recolección final de las muestras, se dejó que los animales se recuperaran durante 63-64 días antes del inicio de la segunda fase. En la segunda fase, los 15 animales de la primera fase, más 3 animales adicionales, fueron divididos en dos grupos; el primer grupo (n=9) recibió el anticuerpo hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P y el segundo grupo (n=9) recibió el anticuerpo hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE, ambos a 50 mg/kg. Se recolectaron cerebros de 4 o 5 animales por grupo a los 2 días y 10 días posdosis.

Se midieron anticuerpos anti IgG4 humana en plasma, CSF y homogenado cerebral de monos cynomolgus (descrito más adelante) con un

ELISA utilizando una cubierta de anticuerpo adsorbida de mono anti-IgG humana de oveja, seguido por la adición de muestras plasmáticas comenzando a una dilución de 1:100, las muestras de CSF comenzando a una dilución de 1:20, o las muestras de homogenado cerebral comenzando a una dilución de 1:10, y se terminó mediante el agregado de un anticuerpo anti IgG humana de cabra conjugado a peroxidasa de rábano picante de mono adsorbido para detección. Se desarrolló el color empleando 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina y se neutralizó empleando ácido fosfórico 1M. Se leyeron las muestras a 450/620 nm. El ensayo tiene un rango de curva estándar de 0,156-20 ng/mL y un límite de detección de 0,02 ug/mL para plasma, 0.003 µg/mL para CSF, y 0.002 µg/mL para el homogenado cerebral. Los resultados por debajo de esta concentración se reportaron como menos de lo reportable (LTR, por sus siglas en inglés).

Los resultados del análisis farmacocinético se muestran en la Figura 19A (plasma) y 19B (CSF), y en las Tablas 23 y 24. Los animales que se sospechaba que eran anticuerpo antiterapéutico positivos (ATA+) fueron excluidos del análisis. Estos datos muestran que introduciendo las mutaciones YTE en la región Fc de hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P desaceleró las velocidades de eliminación periférica y del CSF del anticuerpo en aproximadamente dos veces.

Tabla 23: Eliminación plasmática media ($\pm$ SD) y estimaciones de $C_{\max}$ luego de única dosis de bolo IV

Anticuerpo	Eliminación de Plasma (mL/día/kg)	$C_{\max}$ (µg/mL)
anti-gD hIgG4	1.67 ± 0.415	1950 ± 174
hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P	2.09 ± 0.229	1970 ± 144
hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE	1.12 ± 0.233	1850 ± 156

Tabla 24: Estimaciones de $C_{\max}$ medias ($\pm$ SD) en CSF luego de única dosis de bolo IV

Anticuerpo	$C_{\max}$ ($\mu\text{g/mL}$)
anti-gD hIgG4	1.39 ± 0.751
hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P	0.910 ± 0.552
hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE	± 1.93

Se determinó la concentración en el cerebro de los anticuerpos a los 2 y 10 días pos-inyección de la siguiente manera. Se pesó el tejido cerebral y luego se homogenizó en 1% de NP-40 en solución salina tamponada con fosfato que contenía tabletas de cóctel de proteasa libre de EDTA, Mini. Luego se rotaron las muestras homogenizadas cerebrales a 4°C durante 1 hora antes de la centrifugación a 14.000 rpm durante 20 minutos. Se aisló el sobrenadante para la medición del anticuerpo en cerebro mediante ELISA, según lo descrito anteriormente. En las Figuras 21 A-D se muestran los resultados de ese experimento. La concentración de anticuerpo hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE en el cerebro, y la relación de concentración en cerebro: plasma para el anticuerpo hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE tenían una tendencia a ser más altas que las del anticuerpo hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P.

También se determinó la respuesta farmacodinámica en plasma. Se determinó la concentración de Tau total en plasma K₂EDTA empleando un inmunoensayo de electroquimiluminiscencia (ECL, por sus siglas en inglés) (Roche Professional Diagnostics (RPD), Penzberg, Alemania). Se valida el inmunoensayo Elecsys® para la cuantificación de Tau total en CSF humano, y debido a la similitud entre Tau de mono cynomolgus y humana, se consideró aceptable para la medición de Tau de mono cynomolgus en CSF y en plasma. El ensayo captura y detecta los aminoácidos 159-224 de Tau humana y de

mono cynomolgus, una región presente en todas las isoformas conocidas, independientemente del estado de fosforilación. El límite de detección más bajo (LDL, por sus siglas en inglés) del ensayo es de 1,01 pg/mL. El ensayo es tolerante a 15,0 mg/mL de hu37D3.v28.A4 hlgG4-S228P.YTE.

5 Los resultados del análisis farmacodinámico se muestran en la Figura 20. Había 3 animales por grupo después de la exclusión de los animales que se sospechaba que eran ATA+, y de otro animal que carecía de valores de referencia. Sorprendentemente, dentro del primer día de dosificación, los niveles de Tau en plasma subieron a un grado mayor en los animales tratados con la variante YTE en comparación con la variante no YTE. Adicionalmente, ese resultado no es pronosticado a partir de la respuesta farmacocinética (Figura 20), ya que la PK es similar entre las variantes en los puntos temporales tempranos. Se mantiene una respuesta más fuerte en los animales tratados con la variante YTE para toda la duración del muestreo.

15

Ejemplo 13: Farmacocinética y farmacodinámica de hu37D3.v28.A4 hlgG4-S228P.YTE en cerebro de mono cynomolgus

Para evaluar la farmacocinética del anticuerpo en el cerebro, doce monos cynomolgus conscientes (*Macaca fascicularis*) por grupo recibieron una sola inyección IV en bolo de hu37D3.v28.A4 hlgG4-S228P.YTE a una dosis de 50 mg/kg. Se utilizó hlgG4 Anti-gD como un control, también a una dosis de 50 mg/kg. En diversos puntos temporales hasta 42 días luego de la dosis, se extrajeron muestras de plasma para determinar las concentraciones de anticuerpo anti-Tau. Adicionalmente, en diversos puntos temporales hasta 42 días, se sacrificaron 2 monos y se determinaron las concentraciones en cerebro y en CSF de anticuerpo.

Se determinaron las concentraciones del anticuerpo sustancialmente según lo descrito en el Ejemplo 12.

La Figura 22A-B muestra la concentración de anticuerpo en cerebro de mono cynomolgus en diversos puntos temporales luego de la dosis, graficado en escala logarítmica (A) y lineal (B). La Tabla 25 muestra los parámetros de las concentraciones cerebrales.

Tabla 25: Estimaciones de los parámetros PK en cerebro medias ($\pm$ SD) luego de una sola dosis en bolo IV

Grupo	Cmax (μ g/ml)	AUCall (día* μ g/ml)
hIgG4 anti-gD	0.175 $\pm$ 0.02	4.26 $\pm$ 0.35
hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE	0.12. $\pm$ 0.03	3.88 $\pm$ 0.89

El anticuerpo hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE mostró un aumento de la concentración en cerebro en el punto temporal terminal, en comparación con anti-gD.

Se determinó también la concentración de los anticuerpos en diversas regiones del cerebro, incluyendo el hipocampo, cerebelo y la corteza frontal.

La Figura 23A-C y las Tablas 26 a 28 muestran los resultados de ese análisis.

Tabla 26: Estimaciones medias de los parámetros PK en el hipocampo luego de una sola dosis en bolo IV

Grupo	Cmax (μ g/ml)	AUCall (día* μ g/ml)
anti-gD hIgG4	0.159	3.95
hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE	0.087	2.87

Tabla 27: Estimaciones medias de los parámetros PK en el cerebelo luego de una sola dosis en bolo IV

Grupo	Cmax (µg/ml)	AUCall (día*µg/ml)
anti-gD hIgG4	0.196	4.30
hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE	0.139	4.56

Tabla 28: Estimaciones medias de los parámetros PK en la corteza frontal

5 luego de una sola dosis en bolo IV

Grupo	Cmax (µg/ml)	AUCall (día*µg/ml)
anti-gD hIgG4	0.17	4.65
hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE	0.138	4.22

Los resultados de ese experimento muestran la exposición de diversas regiones del cerebro al anticuerpo hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE luego de una sola inyección IV. Las exposiciones totales en cerebro eran comparables a través de los dos grupos, sin embargo, eran similares a las observaciones en el plasma, hubo un aumento aproximado del doble en las concentraciones de anticuerpo en el cerebro en el punto temporal terminal en animales dosificados con anticuerpo hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE, en comparación con anti-gD. Ver la Figura 23. Estos resultados sugieren el mantenimiento de concentraciones superiores mínimas (terminal) en cerebro luego de la dosificación con el anticuerpo YTE.

También se determinó la concentración de los anticuerpos en CSF y en plasma con el transcurso del tiempo. Las Figuras 23D (CSF) y 23E (plasma) y las Tablas 29 y 30 muestran los resultados de ese análisis.

Tabla 29: Estimaciones medias de los parámetros PK en CSF luego de una

5 sola dosis en bolo IV

Grupo	Cmax ($\mu\text{g/ml}$)	AUCall (día* $\mu\text{g/ml}$)
anti-gD hlgG4	1.270	18.400
hu37D3.v28.A4 hlgG4-S228P.YTE	3.980	21.100

Tabla 30: Estimaciones medias de los parámetros PK en plasma luego de una sola dosis en bolo IV

Grupo	Cmax ($\mu\text{g/ml}$)	Tmax Día	AUCall (día* $\mu\text{g/ml}$)	Terminal (Día 43) $\mu\text{g/mL}$
anti-gD hlgG4	0.175 $\pm$ 0.02	2	4.26 $\pm$ 0.35	36.3 $\pm$ 14.1
hu37D3.v28.A4 hlgG4-S228P.YTE	0.12. $\pm$ 0.03	3	3.88 $\pm$ 0.89	89.4 $\pm$ 42.3

10 Nuevamente, de manera similar a la farmacocinética en plasma y cerebro, hubo un aumento de aproximadamente el doble en la concentración de anticuerpo en CSF y en plasma en el punto temporal terminal en animales dosificados con anticuerpo hu37D3.v28.A4 hlgG4-S228P.YTE, en comparación con anti-gD. Ver la Figura 23.

15 Utilizando las muestras de plasma extraídas de los monos cynomolgus, se evaluaron las farmacodinámicas en plasma de anticuerpo hu37D3.v28.A4 hlgG4-S228P.YTE y anticuerpo control luego de una única dosis IV de 50

mg/kg. Se cuantificó Tau en plasma empleando el inmunoensayo Elecsys® descrito en el Ejemplo 12.

Los resultados del análisis farmacodinámico se muestran en la Figura 24A-. La Figura 24A muestra la concentración media de Tau en plasma total, normalizada al punto de referencia. La Figura 24B muestra la concentración total de Tau en plasma en monos individuales en el estudio, normalizada al punto de referencia. De manera similar a los resultados observados en el Ejemplo 12, la administración de anticuerpo hu37D3.v28.A4 hlgG4-S228P.YTE dio como resultado un aumento significativo en los niveles de Tau en plasma. Si bien no se desea estar limitados por teoría particular alguna, estos datos sugieren que hu37D3.v28.A4 hlgG4-S228P.YTE se une a Tau en el cerebro, y por consiguiente Tau es eliminada del cerebro hacia la periferia. Estos resultados son consistentes con el compromiso objetivo en el cerebro por hu37D3.v28.A4 hlgG4-S228P.YTE.

Si bien la invención que antecede ha sido descrita con ciertos detalles a modo de ilustración y ejemplo con el objetivo de comprenderla mejor, las descripciones y ejemplos no deberían interpretarse como una limitación al alcance de la invención. Las descripciones de toda patente y literatura científica mencionadas en esta invención se incorporan expresamente en su totalidad a modo de referencia.

Tabla de Secuencias

SEC ID NO	Descripción	Secuencia
2	Epítipo de Tau Humana	AEPRQEFVMDHAGTYGLGDRK
4	Epítipo de Tau de mono Cynomolgus	AEPRQEFVMDHAGTYGLGDRK
10	región variable de cadena pesada (VH) de 37D3–H9	EVQLVESGGD LAKPGGSLKL SCTASGLIFR SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYYCANSY SGAMDYWGQG TSVTVSS
11	región variable de cadena ligera (VL) de 37D3–H9	DDLLTQTPLS LPVSLGDPAS ISCRSSQSIV HSNGNTYFEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNR SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGS LVP WTFGGG TKLE IK
12	37D3–H9 HVR–H1	SYGMS
13	37D3–H9 HVR–H2	TINSGGTYTYYPDSVKG
14	37D3–H9 HVR–H3	SYSGAMDY
15	37D3–H9 HVR–L1	RSSQSIVHSNGNTYFE
16	37D3–H9 HVR–L2	KVSNRFS
17	37D3–H9 HVR–L3	FQGSLVPWT
20	región variable de cadena pesada (VH) de 37D3–H9b	EVQLVESGGD LAKPGGSLKL SCTASGLIFR SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYYCANSY SGAMDYWGQG TSVTVSS
21	región variable de cadena ligera (VL) de 37D3–H9b	EDLLTQTPLS LPVSLGDPAS ISCRSSQSIV HSNGNTYFEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNR SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGS LVP WTFGGG TKLE IK
22	37D3–H9b HVR–H1	SYGMS
23	37D3–H9b HVR–H2	TINSGGTYTYYPDSVKG

24	37D3–H9b HVR–H3	SYSGAMDY
25	37D3–H9b HVR–L1	RSSQSIVHSNGNTYFE
26	37D3–H9b HVR–L2	KVSNRFS
27	37D3–H9b HVR–L3	FQGSLVPWT
30	región variable de cadena pesada (VH) de 11E10–B8	EVQLVESGGD LVKPGGSLKL SCAASGFTFR SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT ISGGGSYTTY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYYCAVSY DGAMDYWGQG TSVTVSS
31	región variable de cadena ligera (VL) de 11E10–B8	DVLTMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNR SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGL YYCFQGSHVP WTFGGGTKLE IK
32	11E10–B8 HVR–H1	SYGMS
33	11E10–B8 HVR–H2	TISGGGSYTYYPDSVKG
34	11E10–B8 HVR–H3	SYDGAMDY
35	11E10–B8 HVR–L1	RSSQSIVHSNGNTYLE
36	11E10–B8 HVR–L2	KVSNRFS
37	11E10–B8 HVR–L3	FQGSHVPWT
40	región variable de cadena pesada (VH) de 54C1–H11 y 61E7–C4	EVQLVESGGD LVKPGGSLKV SCVASGFTFR SYGMSWVRQT PDKRLDWVAT ISSGGNYTTY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYYCASSY SGAMDYWGQG TSVTVSS
41	región variable de cadena ligera (VL) de 54C1–H11 y 61E7–C4	DTVMTQSPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYTVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHVP WTFGGGTKLE IK
42	54C1–H11 y 61E7–C4 HVR–H1	SYGMS
43	54C1–H11 y 61E7–C4 HVR–	TISSGGNYTYYPDSVKG

	H2	
44	54C1–H11 y 61E7–C4 HVR– H3	SYSGAMDY
45	54C1–H11 y 61E7–C4 HVR– L1	RSSQSIVHSNGNTYLE
46	54C1–H11 y 61E7–C4 HVR– L2	TVSNRFS
47	54C1–H11 y 61E7–C4 HVR– L3	FQGSHPWT
50	región variable de cadena pesada (VH) de 3A4–H4	EVQLVESGGD LVKPGGSLKL SCAASGFTFS SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT ISSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYFCATSY DGAMDYWGQG TSVTVSS
51	región variable de cadena ligera (VL) de 3A4–H4	DVLTMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNR SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGTLVP WTFGGGTKLE IK
52	3A4–H4 HVR– H1	SYGMS
53	3A4–H4 HVR– H2	TISSGGTYTYYPDSVKG
54	3A4–H4 HVR– H3	SYDGAMDY
55	3A4–H4 HVR–L1	RSSQNIVHSNGNTYLE
56	3A4–H4 HVR–L2	KVSNRFS
57	3A4–H4 HVR–L3	FQGTLPWT
60	región variable de cadena pesada (VH) de 19H6–F7	EVQLVESGGD LVKPGGSLKL SCAASGFTFS SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT ISSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYYCAPSY DGAMDYWGQG TSVTVSS
61	región variable de cadena ligera (VL) de 19H6–F7	DVLTMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNR SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSLVP WTFGGGTKLE IK
62	19H6–F7 HVR– H1	SYGMS
63	19H6–F7 HVR– H2	TISSGGTYTYYPDSVKG

64	19H6-F7 HVR-H3	SYDGAMDY
65	19H6-F7 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYLE
66	19H6-F7 HVR-L2	KVSNRFS
67	19H6-F7 HVR-L3	FQGSLVPWT
70	región variable de cadena pesada (VH) de 94B2-C1	EVQLQQSGPE LVKPGASKMI SCKASGYSLT GYTMNWVKQS HGKNLEWIGL ISPYNGVTSY NPKFKGKATL TVDKSSNTAY MELLSLTFED SAVYYCARQG AYWGQGTTLVT VSA
71	región variable de cadena ligera (VL) de 94B2-C1	DVVMQTPLT LSVTIGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQRPQGSPK RLIYLVSKLD SGVPDRFTGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCWQGTTHFP WTFGGGTKLE IK
72	94B2-C1 HVR-H1	GYTMN
73	94B2-C1 HVR-H2	LISPYNGVTSYNQKFKG
74	94B2-C1 HVR-H3	QGAY
75	94B2-C1 HVR-L1	KSSQSLLDSDGKTYLN
76	94B2-C1 HVR-L2	LVSKLDS
77	94B2-C1 HVR-L3	WQGTTHFPWT
80	región variable de cadena pesada (VH) de 125B11-H3	EVKLEESGGG LVQPGGSMKL SCVASRFIFS NYWMNWVRQS PEKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKSS VYLQMNNLRA EDTGIYYCTG GTTYWGQGT LTVSS
81	región variable de cadena ligera (VL) de 125B11-H3	DIVMTQSQKF LSTSVGDRVN ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GQSPGLLIYS ASIRYTGVPD RFTGNGSGTD FTLTISDMQS EDLADYFCQQ FRTPYPTFGG GTKLEIK
82	125B11-H3 HVR-H1	NYWMN
83	125B11-H3 HVR-H2	QIRLKSDNYA THYAESVKG
84	125B11-H3	GT TY

	HVR-H3	
85	125B11-H3 HVR-L1	KASQNVGTAVA
86	125B11-H3 HVR-L2	SASIRYT
87	125B11-H3 HVR-L3	QQFRTYPYT
90	región variable de cadena pesada (VH) de 113F5- F7	EVKLEESGGG LVQPGGSMRL SCVASEFTFS NYWMNWIRQS PEKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDNFS VYLQMNNLRA EDTGIYYCTG GTSYWGQGT LTVSS
91	región variable de cadena ligera (VL) de 113F5- F7	DIVMTQSQKI MSTSVGDRVS ITCKASQNVG TAVAWYQQR GHSPKLLIYS ASRRFSGVPD RFTGSGSGTD FTLTIINVQS EDLADYFCQQ FSTYPYTFGV GTKLEIK
92	113F5-F7 HVR- H1	NYWMN
93	113F5-F7 HVR- H2	QIRLKSDNYATHYAESVKG
94	113F5-F7 HVR- H3	GTSY
95	113F5-F7 HVR- L1	KASQNVGTAVA
96	113F5-F7 HVR- L2	SASRRFS
97	113F5-F7 HVR- L3	QQFSTYPYT
100	región variable de cadena pesada (VH) de 26C1- B11	EVHLQQSGAE LVRSGASVKL SCTASGFNIK DYMYWVKQR PEQGLEWIGW IDPENGDEY FPAKQKATM TADTSSKTAY LQLSSLTSED TAVYYCNAWR ARATNSALDY WGQTSVTVS S
101	región variable de cadena ligera (VL) de 26C1- B11	DVVMQTPLT LSVTIGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLRRPGQSPK RLIYLVSKLD SGVPDRFTGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCWQGTHFP WTFGGGKLE IK
102	26C1-B11 HVR- H1	DYMY
103	26C1-B11 HVR- H2	WIDPENGDE YPAKQK
104	26C1-B11 HVR-	WRARATNSAL DY

	H3	
105	26C1–B11 HVR–L1	KSSQSLLDSD GKTYLN
106	26C1–B11 HVR–L2	LVSKLDS
107	26C1–B11 HVR–L3	WQGTHFPWT
110	región variable de cadena pesada (VH) de 26C1–C8	EVHLQQSGAE LVRSGASVKL SCTASGFNIK DYMYWVKQR PEQGLEWIGW IDPENGDTY FPKFQKGATM TADTSSKTAY LQLSSLTSED TAVYYCNAWR ARATNSALDY WQGTSTVTS S
111	región variable de cadena ligera (VL) de 26C1–C8	DVVMQTPLT LSVTIGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLRRPGQSPK RLIYLVSKLD SGVPDRFTGS GSGTDFTLKI SRVEADLGV YYCWQGTTHFP WTFGGGTKLE IK
112	26C1–C8 HVR–H1	DYMY
113	26C1–C8 HVR–H2	WIDPENGDTY YFPKFQG
114	26C1–C8 HVR–H3	WRARATNSAL DY
115	26C1–C8 HVR–L1	KSSQSLLDSD GKTYLN
116	26C1–C8 HVR–L2	LVSKLDS
117	26C1–C8 HVR–L3	WQGTHFPWT
120	región variable de cadena pesada (VH) de 30G1–B2	QVQLQQSGAE LVRPGASVTL SCKASGYTFT DYMYWVKQT PVHGLEWIGA IDPETGDTAY NQKFQKGATL TADKSSNTAY MELRSLTSED SAVYYCIRQY GNWFPYWGQG TLVTVSA
121	región variable de cadena ligera (VL) de 30G1–B2	DVVMQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSLV HANGNTYLHW FLQKPGLSPK LLIYKVSNR SGVPDRFSGG GSGTDFTLKI TRLEADLGV YFCSQSTHVP FTFGSGTKLE IK
122	30G1–B2 HVR–H1	DYMY
123	30G1–B2 HVR–H2	AIDPETGDTAYNQKFQ
124	30G1–B2 HVR–H3	QYGNWFPY

125	30G1–B2 HVR–L1	RSSQSLVHANGNTYLH
126	30G1–B2 HVR–L2	KVSNRFS
127	30G1–B2 HVR–L3	SQSTHVPFT
130	región variable de cadena pesada (VH) de 66F5–A1	QVQLQQSGAE LVRPGASVTL SCKASGYTFI DYEMNWVKQT PVHGLEWIGA IDPENGGTAY NQKFKGKAIV TADKSSSTAY MELRSLTSED SAVYYCSGPH FDYWGQGTTL TVSS
131	región variable de cadena ligera (VL) de 66F5–A1	DIVMTQSPSS LAMSVGQKVT MSCKSSQSLL NSSTQKNYLA WYQQKPGQSP KLLVYFASTR ESGVPDRFIG SGSGTDFTLT ISSVQAEDLA DYFCQQHYST PYTFGGGTKL EIK
132	66F5–A1 HVR–H1	DYEMN
133	66F5–A1 HVR–H2	AIDPENGGA YNQKFKG
134	66F5–A1 HVR–H3	PHFDY
135	66F5–A1 HVR–L1	KSSQSLLNSS TQKNYLA
136	66F5–A1 HVR–L2	FASTRES
137	66F5–A1 HVR–L3	QQHYSTPYT
140	región variable de cadena pesada (VH) de 123E9–A1	EVQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFT DYVMKWVKQS HGKSLEWIGD IDPNNGGTSY NQKFKGKATL TVDKSSSTAY MQLNSLTSED SAVYYCARSA GFGDSFSFWG LGTLVTVSA
141	región variable de cadena ligera (VL) de 123E9–A1	DVLTMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNR SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGF YYCFQGSHVP PTFGGGTKLE IK
142	123E9–A1 HVR–H1	DYYMK
143	123E9–A1 HVR–H2	DIDPNNGGTSYNQKFKG
144	123E9–A1 HVR–H3	SAGFGDSFSF
145	123E9–A1 HVR–	RSSQSIVHSNGNTYLE

	L1	
146	123E9–A1 HVR–L2	KVSNRFS
147	123E9–A1 HVR–L3	FQGSHVPPT
150	región variable de cadena pesada (VH) de 15C6–A7	EVQLQQSGPE LVKPGASVMM TCKASGYTFT DYYMKWVKQS NGKSLEWIGD LDPYTGGANY NQKFKGKATL TVDKSSSTAY MHLNSLTSED SAVYYCARSR GYGDSFAYWG QGTLVTVSA
151	región variable de cadena ligera (VL) de 15C6–A7	DVLTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRF SGVPDKFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCFQGSHVP PTFGGGTKLE IK
152	15C6–A7 HVR–H1	DYYMK
153	15C6–A7 HVR–H2	DLDPYTGGAN YNQKFKG
154	15C6–A7 HVR–H3	SRGYGDSFAY
155	15C6–A7 HVR–L1	RSSQNIVHSN GNTYLE
156	15C6–A7 HVR–L2	KVSNRFS
157	15C6–A7 HVR–L3	FQGSHVPPT
160	región variable de cadena pesada (VH) de 19F8–B1	EVQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFT DYYMKWVKQS HGKSLEWIGD LNPNNGGTLY NQKFKGQATL TVDKSSSTAY MQFNLSLTSED SAVYYCARSA GYGDSFAYWG QGTLVTVSA
161	región variable de cadena ligera (VL) de 19F8–B1	DVLTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGI YFCFQGSHVP PTFGGGTKLE IK
162	19F8–B1 HVR–H1	DYYMK
163	19F8–B1 HVR–H2	DLNPNNGGTL YNQKFKG
164	19F8–B1 HVR–H3	SAGYGDSFAY
165	19F8–B1 HVR–	RSSQNIVHSN GNTYLE

	L1	
166	19F8–B1 HVR– L2	KVSNRFS
167	19F8–B1 HVR– L3	FQGSHPPT
170	región variable de cadena pesada (VH) de 24A11– D5	EVQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFT DYYMKWVKQS HGKSLEWIGD LNPKNGGIIY NQKFKGQATL TVDKSSSTAY MQLNSLTSED SAVFYCARSG GYGDSFAYWG QGTLVTVSA
171	región variable de cadena ligera (VL) de 24A11– D5	DVLTMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGI YFCFQGSHVP PTFGGGTKLE IK
172	24A11–D5 HVR– H1	DYYMK
173	24A11–D5 HVR– H2	DLNPKNGGII YNQKFKG
174	24A11–D5 HVR– H3	SGGYGDSFAY
175	24A11–D5 HVR– L1	RSSQNIVHSN GNTYLE
176	24A11–D5 HVR– L2	KVSNRFS
177	24A11–D5 HVR– L3	FQGSHPPT
180	región variable de cadena pesada (VH) de 126F11– G11	EVQLQQSGAE LVRPGASVKL SCTASGFNIK DDYMHWVKQR PEQGLEWIGW IDPENGDEY ASKFQKATI TTDTSNTAY LQLSSLTSED TAVYYCLDFA YGYWGQGTTL TVSS
181	región variable de cadena ligera (VL) de 126F11– G11	DVLTMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHVP PAFGGGTKLE IK
182	126F11–G11 HVR–H1	DDYMH
183	126F11–G11 HVR–H2	WIDPENGDE YASKFQG
184	126F11–G11 HVR–H3	FAYGY
185	126F11–G11	RSSQSIVHSN GNTYLE

	HVR-L1	
186	126F11-G11 HVR-L2	KVSNRFS
187	126F11-G11 HVR-L3	FQGSHVPPA
190	región variable de cadena pesada (VH) de 89F4-A1	EVQLVESGGG LVQPKGSLKL SCAASGFTFN TYAMNWVRQA PGKGLEWVAR IRSKSNYYAA YFADSVKDRF TISRDDSQTM LYLQMNLLKS EDTAMYYCVS GGNYPFAYW GQGLVTVSA
191	región variable de cadena ligera (VL) de 89F4-A1	NIMMTQSPSS LAVSAGEKVT MSCKSSQSVF YSSEQRNYLA WYQQKPGQSP KLLISWASTR ESGVPDRFTG SGSGTDFTLT ISSVQGEDLA VYYCHQYLSS FTFGSGTKLE IK
192	89F4-A1 HVR- H1	TYAMN
193	89F4-A1 HVR- H2	RIRSKSNYYA AYFADSVKD
194	89F4-A1 HVR- H3	GGNYPFAY
195	89F4-A1 HVR- L1	KSSQSVFYSS EQRNYLA
196	89F4-A1 HVR- L2	WASTRES
197	89F4-A1 HVR- L3	HQYLSSFT
200	región variable de cadena pesada (VH) de 93A8- D2	EVQLQQSGPV LVKPGASVKM SCKASGYTFT DYYVNWVKQS HGKGLEWIGL INPNNGRTSY NQNFNDKATL TVDKSSSTAF MDLNSLTSED SAVYYCTREG GTGYWGQGT LSVSS
201	región variable de cadena ligera (VL) de 93A8-D2	DVVMQTPLT LSVTIGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQRPQGSP RLIYLVSKLD SGVPDRFTGS GSGTDFTLKI SRVAAEDLGV YYCWQGTTHP RTFGGSGTKLE IK
202	93A8-D2 HVR- H1	DYYVN
203	93A8-D2 HVR- H2	LINPNNGRTSYNQNFND
204	93A8-D2 HVR- H3	EGGTGY
205	93A8-D2 HVR- L1	KSSQSLLDSDGKTYLN

206	93A8–D2 HVR–L2	LVSKLDS
207	93A8–D2 HVR–L3	WQGTDFPRT
210	región variable de cadena pesada (VH) de 14F5–D9	EVKLVESGGG LVQPGGSLRL SCATSGFTFS DFYMEWVRQS PGKRLEWIAA SKNKANDYTT EYNASVKDRF FVSRDTSQSI LYLQMNALRA EDTAIYYCAR DALGTVFAYW GQGTSLVTVSA
211	región variable de cadena ligera (VL) de 14F5–D9	DVVMQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSLV HSNGNTYLHW YLQKPGQSPK LLIYKVFNR SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLG YFCSQSTLVP LTFGAGTKLE LK
212	14F5–D9 HVR–H1	DFYME
213	14F5–D9 HVR–H2	ASKNKANDYT TEYNASVKD
214	14F5–D9 HVR–H3	DALGTVFAY
215	14F5–D9 HVR–L1	RSSQSLVHSN GNTYLH
216	14F5–D9 HVR–L2	KVFNRFS
217	14F5–D9 HVR–L3	SQSTLVPLT
220	región variable de cadena pesada (VH) de 73H6–B8	QVQLKESGPG LVAPSQSLSI TCTISGFSLT SYGVHWVRQP PGKGLEWLVV IWSDGSTTYN SALKSRLSIS KDNSKSQVFL KMNSLQDDT AMYYCARQGG FITTAYYAMD YWGQTSVTV SS
221	región variable de cadena ligera (VL) de 73H6–B8	DIVMSQSPSS LAVSAGEKVT MSCKSSQSLL NSRTRKNYLA WYQQKPGQSP KLLIYWASTR ESGVPDRFTG SSGTDFTLT ISSVQAEDLA VYYCKQSYNL YTFGGGTKLE IK
222	73H6–B8 HVR–H1	SYGVH
223	73H6–B8 HVR–H2	VIWSDGSTTY NSALKS
224	73H6–B8 HVR–H3	QGGFITTAAY AMDY
225	73H6–B8 HVR–L1	KSSQSLLNSR TRKNYLA
226	73H6–B8 HVR–	WASTRES

	L2	
227	73H6–B8 HVR– L3	KQSYNLYT
230	región variable de cadena pesada (VH) de 22G7–C9	QIQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGYTFT DCSIHWVKQA PGEGLKWMGW INTETGEPSY ADDFKGRFAF SLETSASTAF LQINNLSKED TASYFCGTAY YRYDGALDYW GQGTSTVTSS
231	región variable de cadena ligera (VL) de 22G7–C9	DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASQSVS TSSYSYMHWF QQKPGQPPKL LIKYASNLES GVPARFSGSG SGTDFTLNIH PVEEEDTATY YCQHSWELPW TFGGGTKLEI K
232	22G7–C9 HVR– H1	DCSIH
233	22G7–C9 HVR– H2	WINTETGEPS YADDFKG
234	22G7–C9 HVR– H3	AYYRYDGALD Y
235	22G7–C9 HVR– L1	RASQSVSTSS YSYMH
236	22G7–C9 HVR– L2	YASNLES
237	22G7–C9 HVR– L3	QHSWELPWT
240	región variable de cadena pesada (VH) de 7A11– C12	QIQLVQSGPD LKKPGETVKI SCKASGYTFT NYGMNWVKQA PGKGLKWMGW INTNTGEPTY AEEFKGRFAF SLETSASTAY LQIDNLKNED TATYFCARGT VSPFYWGQGT LVTVSA
241	región variable de cadena ligera (VL) de 7A11– C12	DVMSQTPLS LPVSLGDHAS ISCRSSQNLV HSDGNTYLHW YLQKPGQSPK LLIYKVSNR SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCSQSTHVI FTFGSGTKLE IK
242	7A11–C12 HVR– H1	NYGMN
243	7A11–C12 HVR– H2	WINTNTGEPT YAEFKG
244	7A11–C12 HVR– H3	GTVSFPY
245	7A11–C12 HVR– L1	RSSQNLVHSD GNTYLH
246	7A11–C12 HVR– L2	KVSNRFS

247	7A11–C12 HVR–L3	SQSTHVIFT
250	región variable de cadena pesada (VH) de 12A10–E8	QIQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGYTFT NYGMNWVKQA PGKGLKWMGW INMYTGEPTY GDDFKGRFVF SLETSVSTVY LQINNLLKKED TATFFCARGG RPDYWGQGTS VTVSS
251	región variable de cadena ligera (VL) de 12A10–E8	DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVFNR SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI NRVEAEDLGV YYCLQGSHVP YTFGGGTKLE IK
252	12A10–E8 HVR–H1	NYGMN
253	12A10–E8 HVR–H2	WINMYTGEPT YGDDFKG
254	12A10–E8 HVR–H3	GGRPDY
255	12A10–E8 HVR–L1	RSSQSIVHSN GNTYLE
256	1 2A10–E8 HVR–L2	KVFNRFS
257	12A10–E8 HVR–L3	LQGSHPYPT
260	región variable de cadena pesada (VH) de 55E7–F11	EVKLEESGGG LVQPGGSMKL SCVASGFTFS NYWMNWVRQS PEKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKSS VYLQMNLLRA EDTGIYYCAG YFYGGYFDVW GTGTTVTVSS
261	región variable de cadena ligera (VL) de 55E7–F11	ELVLTQSPTT MAASPGKKIT ITCSSASSIS SNYLHWYQQK PGFSPKLLIY RTSNLASGVP ARFSGSGSGT SYSLTIGTME AEDVATYYCQ QGSSLPFTFG SGTKEIK
262	55E7–F11 HVR–H1	NYWMN
263	55E7–F11 HVR–H2	QIRLKSDNYA THYAESVKG
264	55E7–F11 HVR–H3	YFYGGYFDV
265	55E7–F11 HVR–L1	SASSSISSNY LH
266	55E7–F11 HVR–L2	RTSNLAS

267	55E7-F11 HVR-L3	QQGSSLPFT
270	región variable de cadena pesada (VH) de 52F6-F11	QVQLQQSGTE LAKPGASVKL SCKASGYTFT HYWMHWIKQR PGQGLEWIGY IYPTNDYTKY NQNFRDKATL TADESSNSAY MQLNSLTIED SAVYYCARAG NRVDFWQGQ TTLTVSS
271	región variable de cadena ligera (VL) de 52F6-F11	QAVVTQESAL TTSPGETVTI TCRSSTGAVT TSNFANWVQE KPDHLFTGLI GGTNNRAPGV PARFSGSLIG DKAALTITGA QTEDEAIYFC ALWYSNLWVF GGGTKLTVL
272	52F6-F11 HVR-H1	HYWMH
273	52F6-F11 HVR-H2	YIYPTNDYTK YNQNFRD
274	52F6-F11 HVR-H3	AGNRVDFD
275	52F6-F11 HVR-L1	RSSTGAVTTS NFAN
276	52F6-F11 HVR-L2	GTNNRAP
277	52F6-F11 HVR-L3	ALWYSNLWV
280	región variable de cadena pesada (VH) de Hu37D3-H9.v1	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYYTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
281	región variable de cadena ligera (VL) de Hu37D3-H9.v1	EDQLTQSPSS LSASVGDRVIT ITCRSSQSIV HSNGNTYFEW YQQKPGKSPK LLIYKVSNR SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTEGQGTKE IK
282	Hu37D3-H9.v1 HVR-H1	SYGMS
283	Hu37D3-H9.v1 HVR-H2	TINSGGTYYTYYPDSVKG
284	Hu37D3-H9.v1 HVR-H3	SYSGAMDY
285	Hu37D3-H9.v1 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYFE
286	Hu37D3-H9.v1 HVR-L2	KVSNRFS

287	Hu37D3-H9.v1 HVR-L3	FQGSLVPWT
288	cadena pesada de Hu37D3-H9.v1 IgG1	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPGK
289	cadena ligera de Hu37D3-H9.v1 IgG1	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNGNTYFEW YQQKPGKSPK LLIYKVSNR SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTEGQGTKE IKRTVAAPSV FIAPPDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
290	región variable de cadena pesada (VH) de Hu37D3-H9.v5	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
291	región variable de cadena ligera (VL) de Hu37D3- H9.v5	EDVLTQTPLS LPVTPGQPAS ISCRSSQSIV HSNGNTYFEW YLQKPGQSPQ LLIYKVSNR SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCFQGSLVP WTEGQGTKE IK
292	Hu37D3-H9.v5 HVR-H1	SYGMS
293	Hu37D3-H9.v5 HVR-H2	TINSGGTYTYYPDSVKG
294	Hu37D3-H9.v5 HVR-H3	SYSGAMDY
295	Hu37D3-H9.v5 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYFE
296	Hu37D3-H9.v5 HVR-L2	KVSNRFS
297	Hu37D3-H9.v5 HVR-L3	FQGSLVPWT
300	región variable de cadena pesada	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRATL TVDKSTSTAY LELSSLRSED

	(VH) de Hu94B2.v105	TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
301	región variable de cadena ligera (VL) de Hu94B2.v105	DIVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTHFP WTFGQGTKVE IK
302	Hu94B2.v105 HVR–H1	GYTMN
303	Hu94B2.v105 HVR–H2	LISPYNGVTSYNQKFKG
304	Hu94B2.v105 HVR–H3	QGAY
305	Hu94B2.v105 HVR–L1	KSSQSLLDSDGKTYLN
306	Hu94B2.v105 HVR–L2	LVSKLDS
307	Hu94B2.v105 HVR–L3	WQGTHFPWT
310	región variable de cadena pesada (VH) de hu125B11.v17	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWQGTL VTVSS
311	región variable de cadena ligera (VL) de hu125B11.v17	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKPK GKSPKLLIYS ASIRYTGVP RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYFCQQ FRTYPYTFGQ GTKVEIK
312	hu125B11.v17 HVR–H1	NYWMN
313	hu125B11.v17 HVR–H2	QIRLKSDNYATHYAESVKG
314	hu125B11.v17 HVR–H3	GT TY
315	hu125B11.v17 HVR–L1	KASQNVGTAVA
316	hu125B11.v17 HVR–L2	SASIRYT
317	hu125B11.v17 HVR–L3	QQFRTYPYT
320	región variable de	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT

	cadena pesada de (VH) hu125B11.v26	HYAESVKGRF TISRDNSKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT L VTVSS
321	región variable de cadena ligera (VL) de hu125B11.v26	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQKP GKAPKLLIYS ASIRYTGVP RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYFCQQ FRTYPYTFGQ GTKVEIK
322	hu125B11.v26 HVR-H1	NYWMN
323	hu125B11.v26 HVR-H2	QIRLKSDNYATHYAESVKG
324	hu125B11.v26 HVR-H3	GT TY
325	hu125B11.v26 HVR-L1	KASQNVGTAVA
326	hu125B11.v26 HVR-L2	SASIRYT
327	hu125B11.v26 HVR-L3	QQFRTYPYT
330	región variable de cadena pesada (VH) de hu125B11.v28	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDNSKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT L VTVSS
331	región variable de cadena ligera (VL) de hu125B11.v28	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQKP GKAPKLLIYS ASIRYTGVP RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYFCQQ FRTYPYTFGQ GTKVEIK
332	hu125B11.v28 HVR-H1	NYWMN
333	hu125B11.v28 HVR-H2	QIRLKSDNYATHYAESVKG
334	hu125B11.v28 HVR-H3	GT TY
335	hu125B11.v28 HVR-L1	KASQNVGTAVA
336	hu125B11.v28 HVR-L2	SASIRYT
337	hu125B11.v28 HVR-L3	QQFRTYPYT

340	región variable de cadena pesada (VH) de Hu37D3–H9.v28.A4	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
341	región variable de cadena ligera (VL) de Hu37D3–H9.v28.A4	DDVLTQTPLS LPVTPGQPAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPQ LLIIYKVSNR SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCFQGS LVP WTFQGQTKVE IK
342	Hu37D3–H9.v28.A4 HVR–H1	SYGMS
343	Hu37D3–H9.v28.A4 HVR–H2	TINSGGTYTYYPDSVKG
344	Hu37D3–H9.v28.A4 HVR–H3	SYSGAMDY
345	Hu37D3–H9.v28.A4 HVR–L1	RSSQSIVHSNGNTYLE
346	Hu37D3–H9.v28.A4 HVR–L2	KVSNRFS
347	Hu37D3–H9.v28.A4 HVR–L3	FQGSLVPWT
348	cadena pesada de Hu37D3–H9.v28.A4 IgG4–S228P.YTE	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCV VDV SQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNKKEYCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK
602	cadena pesada des-K de Hu37D3–H9.v28.A4 IgG4–S228P.YTE	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY

		SLSSVTVPS SSLGKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCVW VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMEALH NHYTQKSLSL SLG
349	cadena ligera de Hu37D3– H9.v28.A4 IgG4– S228P.YTE	DDVLTQTPLS LPVTPGQPAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPQ LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCFQGSLVP WFTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNREGC
442	hu125B11– H3.LC1	DIQMTQSPSS LSASVGDRV ITCKASQNVG TAVAWYQKP GKSPKLLIYS ASIRYTGVP RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYFCQ FRTPYTFGQ GTKVEIK
443	hu125B11– H3.LC2	DIQMTQSPSS LSASVGDRV ITCKASQNVG TAVAWYQKP GKAPKLLIYS ASIRYTGVP RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYFCQ FRTPYTFGQ GTKVEIK
444	hu125B11– H3.LC3	DIQMTQSPSS LSASVGDRV ITCKASQNVG TAVAWYQKP GKSPKLLIYS ASIRYTGVP RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYFCQ FRTPYTFGQ GTKVEIK
445	hu125B11– H3.LC4	DIQMTQSPSS LSASVGDRV ITCKASQNVG TAVAWYQKP GKAPKLLIYS ASIRYTGVP RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYFCQ FRTPYTFGQ GTKVEIK
446	hu125B11– H3.HC1	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIF NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT VLVSS
447	hu125B11– H3.HC2	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIF NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDNKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT VLVSS
448	hu125B11– H3.HC3	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIF NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT VLVSS
449	hu125B11– H3.HC4	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIF NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDNKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT VLVSS
450	hu125B11– H3.HC5	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIF NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT VLVSS
451	hu125B11– H3.HC6	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIF NYFMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT

		HYAESVKGRF TISRDDSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT LVTSS
452	Hu94B2.HC1	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRATL TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
453	Hu94B2.HC2	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRVTL TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
454	Hu94B2.HC3	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRATI TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
455	Hu94B2.HC4	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRATL TRDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
456	Hu94B2.HC5	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRATL TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
457	Hu94B2.HC6	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRVTI TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
458	Hu94B2.HC7	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRVTI TRDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
459	Hu94B2.HC8	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRVTI TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
460	Hu94B2.LC9	DVVMQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGT HFP WTFGQGT KVE IK
461	Hu94B2.LC10	DVVMQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQKPGQSPQ LLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGT HFP WTFGQGT KVE IK
462	Hu94B2.LC11	DVVMQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW YLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGT HFP WTFGQGT KVE IK
463	Hu94B2.LC12	DVVMQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW YLQKPGQSPQ LLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGT HFP WTFGQGT KVE IK
464	Hu94B2.LC13	DIVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGT HFP WTFGQGT KVE IK

465	Hu94B2.LC14	DIVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQKPGQSPQ LLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTHFP WTFGQGTKVE IK
466	Hu94B2.LC15	DIVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW YLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTHFP WTFGQGTKVE IK
467	Hu94B2.LC16	DIVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW YLQKPGQSPQ LLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTHFP WTFGQGTKVE IK
468	Hu37D3-H9.v5.1 HVR-L1	RSSQSIVHSNANTYFE
469	Hu37D3-H9.v5.2 HVR-L1	RSSQSIVHSSGNTYFE
470	Hu37D3-H9.v5.3 HVR-L1	RSSQSIVHSDGNTYFE
471	Hu37D3-H9.v5.4 HVR-L1	RSSQSIVHSQGNTYFE
472	Hu37D3-H9.v5.5 HVR-L1	RSSQSIVHSEGNTYFE
473	Hu37D3-H9.v5.6 HVR-L1	RSSQSIVHSAGNTYFE
474	Hu37D3-H9.v5.7 HVR-L1	RSSQSIVHSNGDTYFE
475	Hu37D3-H9.v5.8 HVR-L1	RSSQSIVHSNGQTYFE
476	Hu37D3-H9.v5.9 HVR-L1	RSSQSIVHSNGETYFE
477	Hu37D3-H9.v5.10 HVR-L1	RSSQSIVHSNGATYFE
478	Hu37D3-H9.v5.11 HVR-L1	RSSQSIVHSNGSTYFE
479	Hu37D3.v28 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYFE
480	Hu37D3.v28.A2 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYFE
481	Hu37D3.v28.A4 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYLE
482	Hu37D3.v28.A6 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYLE
483	Hu37D3.v28.A8 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYFE
484	Hu37D3.v28.A10 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYFE

485	Hu37D3.v28.A12 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYLE
486	Hu37D3.v28.A14 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYLE
487	Hu37D3.v28.A16 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYFE
488	Hu37D3.v28.A18 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYFE
489	Hu37D3.v28.A20 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYLE
490	Hu37D3.v28.A22 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYLE
491	Hu37D3.v28.A24 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYFE
492	Hu37D3.v28.A26 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYFE
493	Hu37D3.v28.A28 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYLE
494	Hu37D3.v28.A30 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYLE
495	Hu37D3.v28.B1 HVR-L1	RSSQSIVHSIGNTFE
496	Hu37D3.v28.B2 HVR-L1	RSSQSIVHSMGNTFFE
497	Hu37D3.v28.B3 HVR-L1	RSSQSIVHSQGNTWFE
498	Hu37D3.v28.B4 HVR-L1	RSSQSIVHSQGNTHFE
499	Hu37D3.v28.B6 HVR-L1	RSSQSIVHSDGNTRFE
500	Hu37D3.v28.B7 HVR-L1	RSSQSIVHSDGNTKFE
501	Hu37D3.v28.B8 HVR-L1	RSSQSIVHSEGNTTRFE
502	Hu37D3.v28.C1 HVR-L1	RSSQSIVHSNNNTYFE
503	Hu37D3.v28.C2 HVR-L1	RSSQSIVHSNDNTYFE
504	Hu37D3.v28.D1 HVR-L1	RSSQSIVHANGNTYFE
505	Hu37D3.v28.E1 HVR-L1	RSSQSIVNSNGNTYFE
506	Hu37D3.v28.E2 HVR-L1	RSSQSIVQSNGNTYFE
507	Hu37D3.v28.E3 HVR-L1	RSSQSIVSDGNTYFE

508	Hu37D3.v28.F1 HVR–L1	RSSQSIVHSNTNTYFE
509	Hu37D3.v28.F2 HVR–L1	RSSQSIVHTNGNTYFE
510	Hu37D3.v28.F3 HVR–L1	RSSQSIVHTNANTYFE
511	Hu37D3.v28.51 HVR–L1	RSSQSIVHSHGNTYFE
512	Hu37D3.v28.52 HVR–L1	RSSQSIVHSGKNTYFE
513	Hu37D3.v28.53 HVR–L1	RSSQSIVHSRGNTYFE
514	Hu37D3.v28.54 HVR–L1	RSSQSIVHSLGNTYFE
515	Hu37D3.v28.55 HVR–L1	RSSQSIVHSNQNTYFE
516	Hu37D3.v28.56 HVR–L1	RSSQSIVHSNYNTYFE
517	Hu37D3.v28.57 HVR–L1	RSSQSIVHSNFNTYFE
518	Hu37D3.v29.1 HVR–L1	RSSQSIVHSNGDTYFE
519	Hu37D3.v29.2 HVR–L1	RSSQSIVHSNGQTYFE
520	Hu37D3.v29.3 HVR–L1	RSSQSIVHSNGETTYFE
521	Hu37D3.v29.4 HVR–L1	RSSQSIVHSNGATYFE
522	Hu37D3.v29.5 HVR–L1	RSSQSIVHSNGHTYFE
523	Hu37D3.v29.6 HVR–L1	RSSQSIVHSNGKTYFE
524	Hu37D3.v29.7 HVR–L1	RSSQSIVHSNGLTYFE
525	Hu37D3.v29.8 HVR–L1	RSSQSIVHSNADTYFE
526	Hu37D3.v29.9 HVR–L1	RSSQSIVHSNAQTYFE
527	Hu37D3.v29.10 HVR–L1	RSSQSIVHSNAETTYFE
528	Hu37D3.v29.11 HVR–L1	RSSQSIVHSNAATYFE
529	Hu37D3.v29.12 HVR–L1	RSSQSIVHSNAHTYFE
530	Hu37D3.v29.13 HVR–L1	RSSQSIVHSNAKTYFE

531	Hu37D3.v29.14 HVR–L1	RSSQSIVHSNALTYFE
532	Hu37D3– H9.v30.1 HVR– L1	RSSQSIVHSGGNTYFE
533	Hu37D3– H9.v30.2 HVR– L1	RSSQSIVHSTGNTYFE
534	Hu37D3– H9.v30.3 HVR– L1	RSSQSIVHSVGNTYFE
535	Hu37D3– H9.v30.4 HVR– L1	RSSQSIVHSLGNTYFE
536	Hu37D3– H9.v30.5 HVR– L1	RSSQSIVHSIGNTYFE
537	Hu37D3– H9.v30.6 HVR– L1	RSSQSIVHSPGNTYFE
538	Hu37D3– H9.v30.7 HVR– L1	RSSQSIVHSFGNTYFE
539	Hu37D3– H9.v30.8 HVR– L1	RSSQSIVHSYGNTYFE
540	Hu37D3– H9.v30.9 HVR– L1	RSSQSIVHSHGNTYFE
541	Hu37D3– H9.v30.10 HVR– L1	RSSQSIVHSKGNTYFE
542	Hu37D3– H9.v30.11 HVR– L1	RSSQSIVHSRGNTYFE
543	Hu37D3– H9.v31.1 HVR– L1	RSSQSIVHSNAGTYFE
544	Hu37D3– H9.v31.2 HVR– L1	RSSQSIVHSAVNTYFE
545	Hu37D3– H9.v31.3 HVR– L1	RSSQSIVHSNAITYFE
546	Hu37D3– H9.v31.4 HVR– L1	RSSQSIVHSNAPTYFE

547	Hu37D3– H9.v31.5 HVR– L1	RSSQSIVHSNAFTYFE
548	Hu37D3– H9.v31.6 HVR– L1	RSSQSIVHSNAYTYFE
549	Hu37D3– H9.v31.7 HVR– L1	RSSQSIVHSNARTYFE
550	Hu37D3– H9.v31.8 HVR– L1	RSSQSIVHSNANVYFE
551	Hu37D3– H9.v31.9 HVR– L1	RSSQSIVHSNANIYFE
552	Hu37D3– H9.v31.10 HVR– L1	RSSQSIVHSNANPYFE
553	Hu37D3– H9.v31.11 HVR– L1	RSSQSIVHSNANFYFE
554	Hu37D3– H9.v31.12 HVR– L1	RSSQSIVHSNANYYFE
555	Hu37D3– H9.v31.13 HVR– L1	RSSQSIVHSNANNYFE
556	Hu37D3– H9.v31.14 HVR– L1	RSSQSIVHSNANRYFE
557	péptido 7-24 de Tau humana	EFEVMEDHAGTYGLGDRK
558	Human Tau péptido 7- 20 de Tau humana	EFEVMEDHAGTYGL
560	región variable de cadena pesada (VH) de Hu37D3.v39	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
561	región variable de cadena ligera (VL) de Hu37D3.v39	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNGNTYLEW YQQKPGKSPK LLIYKVSNRFGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IK
562	Hu37D3.v39 HVR- H1	SYGMS
563	Hu37D3.v39 HVR- H2	TINSGGTYTYYPDSVKG
564	Hu37D3.v39 HVR- H3	SYSGAMDY
565	Hu37D3.v39 HVR-L1	RSSQSIVHSNGNTYLE

566	Hu37D3.v39 HVR-L2	KVSNRFS
567	Hu37D3.v39 HVR-L3	FQGS LVPWT
568	cadena pesada de Hu37D3.v39 IgG4-S228P.YTE	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTYY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVP SSSLGKTCTTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK
569	cadena ligera de Hu37D3.v39 IgG4-S228P.YTE	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNNTYILEW YQQKPGKSPK LLIYKVS NRF SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNREGC
570	región variable de cadena pesada de (VH) de Hu37D3.v40	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTYY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
571	región variable de cadena ligera (VL) de Hu37D3.v40	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNTNTYFEW YQQKPGKSPK LLIYKVS NRF SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IK
572	Hu37D3.v40 HVR-H1	SYGMS
573	Hu37D3.v40 HVR-H2	TINSGGTYTYYPDSVKG
574	Hu37D3.v40 HVR-H3	SYSGAMDY
575	Hu37D3.v40 HVR-L1	RSSQSIVHSNTNTYFE
576	Hu37D3.v40 HVR-L2	KVSNRFS
577	Hu37D3.v40 HVR-L3	FQGS LVPWT
578	cadena pesada de Hu37D3.v40 IgG4-S228P.YTE	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTYY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVP SSSLGKTCTTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK
579	cadena ligera de Hu37D3.v40 IgG4-S228P.YTE	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNTNTYFEW YQQKPGKSPK LLIYKVS NRF SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE

		VTHQGLSSPV TKSFNREGC
580	Hu37D3.v41 heavy chain variable region (VH)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
581	región variable de cadena ligera (VL) de Hu37D3.v41	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNQTYFEW YQQKPGKSPK LLIIYKVSNRFGSGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFQGQTKVE IK
582	Hu37D3.v41 HVR-H1	SYGMS
583	Hu37D3.v41 HVR-H2	TINSGGTYTYYPDSVKG
584	Hu37D3.v41 HVR-H3	SYSGAMDY
585	Hu37D3.v41 HVR-L1	RSSQSIVHSNGQTYFE
586	Hu37D3.v41 HVR-L2	KVSNRFS
587	Hu37D3.v41 HVR-L3	FQGSLVPWT
588	cadena pesada de Hu37D3.v41 IgG4-S228P.YTE	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGKTITYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCVW VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK
589	cadena ligera de Hu37D3.v41 IgG4-S228P.YTE	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNQTYFEW YQQKPGKSPK LLIIYKVSNRFGSGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFQGQTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNREGC
590	cadena pesada de Hu37D3-H9.v1 IgG4-S228P	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGKTITYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVW VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK
592	MAPT(10-24)	VMEDHAGTYGLGDRK
593	MAPT(2-24)	AEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRK
594	MAPT(2-34)	AEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQD
595	MAPT(10-44)	VMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLK
596	MAPT(2-24)Y18A	AEPRQEFVMEHDHAGTAGLGDRK

597	MAPT(2-24)L20A	AEPRQEFVMDHAGTYGAGDRK
598	hu113F5-F7.LC1	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKSPKLLIYS ASRRFSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYFCQQ FSTYPYTFGQ GTKVEIK
599	hu113F5-F7.LC2	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASRRFSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYFCQQ FSTYPYTFGQ GTKVEIK
600	hu113F5-F7.LC3	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKSPKLLIYS ASRRFSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ FSTYPYTFGQ GTKVEIK
601	hu113F5-F7.LC4	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASRRFSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ FSTYPYTFGQ GTKVEIK