



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

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2020.03.17**

**(21)** Номер заявки  
**201301293**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2012.05.21**

**(51)** Int. Cl. **A61K 39/395** (2006.01)  
**C07K 16/28** (2006.01)  
**G01N 33/53** (2006.01)  
**A61P 27/02** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

**(54) СПОСОБ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ИЛИ ИНГИБИРОВАНИЯ СВЕТОБОЯЗНИ ИЛИ ОТВРАЩЕНИЯ К СВЕТУ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АНТИТЕЛ ПРОТИВ CGRP**

**(31)** **61/488,660; 61/496,860**

**(32)** **2011.05.20; 2011.06.14**

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

**(43)** **2014.04.30**

**(86)** **PCT/US2012/038875**

**(87)** **WO 2012/162257 2012.11.29**

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ОЛДЕРБАЙО ХОЛДИНГЗ ЛЛК;  
ТЕ ЮНИВЕРСИТИ ОФ АЙОВА  
РИСЕРЧ ФАУНДЕЙШН (US)**

**(72)** Изобретатель:  
**Руссо Эндрю Ф., Кайзер Эрик Э.,  
Рикобер Ана, Кубурас Адиза, Раддант  
Энн К., Ковасевич Брайан Роберт,  
Латам Джон Э., Смит Джеффри Т.Л.,  
Гарсия-Мартинес Леон Ф. (US)**

**(74)** Представитель:  
**Бадаева Т.Н., Фелицына С.Б. (RU)**

**(56)** WO-A1-2007076336  
RECOBER Ana et al. "Role of Calcitonin Gene-Related Peptide in Light-Aversive Behavior: Implications for Migraine", J Neurosci, 2009, Vol. 29, no. 27,

p. 8798-8804, doi:10.1523/JNEUROSCI.1727-09.2009, с. 1-14, особенно реферат, с. 1-4

EMERICK G.T. Migraines in the Presence of Glaucoma. Glaucoma Today, 2008, с. 21-23. Найдено в Интернет: URL: [http://bmctoday.net/glaucomatoday/2008/article.asp?f=GT0908\\_04.php](http://bmctoday.net/glaucomatoday/2008/article.asp?f=GT0908_04.php)  
WO-A2-2001022972

DOOLEY J.S. et al. "Antibiotics in the treatment of biliary infection", Gut, 1984, Vol. 25, p. 988-998, особенно реферат, с. 990

NISHIMOTO N. et al. "Anti-interleukin 6 receptor antibody treatment in rheumatic disease", Ann Rheum Dis, 2000, 59 (suppl 1): p. i21-i27, особенно реферат

SCHOENEN J. et al. "Almotriptan and its combination with aceclofenac for migraine attacks: a study of efficacy and the influence of auto-evaluated brush allodynia", Cephalalgia, 2008, 28, p. 1095-1105, особенно реферат

UHR M. et al. "Penetration of Endogenous Steroid Hormones Corticosterone, Cortisol, Aldosterone and Progesterone into the Brain is Enhanced in Mice Deficient for Both mdr 1a and mdr 1b P-Glycoproteins", Journal of Neuroendocrinology, 2002, Vol. 14, p. 753-759, особенно реферат

TFELT-HANSEN P. et al. Effervescent metoclopramide and aspirin (Migravess) versus effervescent aspirin or placebo for migraine attacks: a double-blind study", Cephalalgia, 1984, Vol. 4, no. 2, p. 107-111, особенно реферат

**(57)** Изобретение направлено на способы ингибирования или предотвращения светобоязни у пациентов, нуждающихся в этом, с использованием антител или фрагментов антител против CGRP, ингибирующих светобоязнь, особенно CGRP-ассоциированную светобоязнь. Указанные антитела и фрагменты можно применять для лечения различных расстройств, связанных со светобоязнью, например мигрени, кластерных головных болей и т.п. Изобретение также обеспечивает анализы с использованием грызунов, трансгенных по нестину/Ramp1, использующие поведенческую модель CGRP-опосредованного отвращения к свету для идентификации терапевтически эффективных антител против CGRP и их фрагментов, обладающих специфичностью связывания с CGRP, ингибирующих или предотвращающих светобоязнь у субъектов, нуждающихся в этом. Конкретнее, изобретение направлено на способы идентификации терапевтически эффективных антител и их фрагментов, обладающих специфичностью связывания с CGRP, которые можно применять для лечения CGRP-ассоциированных расстройств, например мигрени. Конкретнее, изобретение относится к анализам и способам лечения, использующим антитела, описанные здесь, для ингибирования или профилактики светобоязни, и их связывающие фрагменты, включающие последовательности V<sub>H</sub>, V<sub>L</sub> и CDR-полипептидов, описанные здесь, и полинуклеотиды, кодирующие их.

### Родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет предварительной заявки США № 61/496860 (№ патентного реестра 67858.760000), поданной 14 июня 2011 г., под названием "USE OF ANTI-CGRP ANTIBODIES AND ANTIBODY FRAGMENTS TO PREVENT OR INHIBIT PHOTOPHOBIA IN SUBJECTS IN NEED THEREOF, ESPECIALLY MIGRAINE" и предварительной заявки США № 61/488660 (№ патентного реестра 67858.730300), поданной 20 мая 2011 г., под названием "ANTI-CGRP COMPOSITIONS AND USE THEREOF", каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

Настоящая заявка содержит "Список последовательностей", представленный в формате ASCII через EFS-Web и полностью включенный в настоящий документ посредством ссылки. Имя указанной ASCII-копии, созданной 21 мая 2012 г., - 67858o730305.txt, а ее размер составляет 203941 байт.

### Уровень техники

#### Область изобретения

Настоящее изобретение относится к открытию того, что полипептиды, ингибирующие взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, и/или антитела и фрагменты антител, специфически связывающие CGRP или рецептор CGRP, можно применять для ингибирования CGRP-индуцированной светобоязни при их введении субъекту, нуждающемуся в этом. Полипептиды, ингибирующие взаимодействие CGRP/рецептор CGRP для использования в настоящем изобретении, включают, например, антитела и фрагменты антител, специфичные по отношению к CGRP или рецептору CGRP и фрагментам или вариантам CGRP или рецептора CGRP, которые ингибируют взаимодействие CGRP с рецепторами CGRP. Поскольку светобоязнь является неблагоприятным побочным эффектом, часто связанным со многими расстройствами, включая, например, мигрень с аурой и без нее, и другие состояния, характеризующиеся головной болью (а также другие показания, раскрытые ниже), то указанные ингибиторы взаимодействия CGRP-рецептор, например антитела и фрагменты антител, специфичные к CGRP или рецептору CGRP, должны быть пригодны для ингибирования светобоязни, часто связанной с мигренью и другими состояниями, характеризующимися головной болью, а также для лечения других состояний, связанных со светобоязнью. Результаты также показывают, что указанные антитела и фрагменты антител можно применять для предотвращения возникновения светобоязни у субъектов, нуждающихся в этом, например у лиц с хронической светобоязнью в анамнезе, например светобоязнью, возникающей в результате мигрени (с аурой или без нее), других состояний, характеризующихся головной болью, депрессией, агорафобией или другими состояниями, подверженными светобоязни, если указанные антитела вводят в профилактических целях. Изобретение предполагает применение указанных антител и фрагментов антител против CGRP в качестве монотерапии или в составе терапевтических схем с другими активными агентами, например анальгетиками, опиоидами, антидепрессантами или другими активными веществами в зависимости от состояния и индивидуума, подвергаемого лечению.

#### Описание уровня техники

Пептид, связанный с геном кальцитонина (CGRP), продуцируется в виде многофункционального нейропептида длиной 37 аминокислот. В организме человека существуют две формы CGRP - CGRP-альфа и CGRP-бета, обладающие аналогичной активностью. CGRP-альфа и CGRP-бета человека отличаются тремя аминокислотами и происходят из различных генов. Семейство пептидов CGRP включает амилин, адrenomедуллин и кальцитонин, хотя рецепторы и биологическая активность каждого из них отличаются; Doods, H., *Curr. Op. Invest. Drugs*, 2(9): 1261-78 (2001). CGRP высвобождается из многочисленных тканей, например тройничных нервов, которые при активации высвобождают нейропептиды в мозговые оболочки, опосредуя нейрогенное воспаление, которое характеризуется расширением сосудов, выходом жидкости из сосудов и разрушением тучных клеток; Durham, P.L., *New Eng. J. Med.*, 350 (11): 1073-75 (2004). Биологические эффекты CGRP опосредованы рецептором CGRP (CGRP-R), состоящим из компонента, семикратно проходящего через мембрану, в сочетании с рецептор-ассоциированным мембранным белком (RAMP). Для CGRP-R также требуется активность белка рецепторного компонента (RCP), необходимая для эффективного соединения с аденилатциклазой через G-белки и продукции цАМФ; Doods, H., *Curr. Op. Invest. Drugs*, 2(9): 1261-78 (2001).

Мигрень представляет собой нервно-сосудистое расстройство, поражающее приблизительно 10% взрослого населения в США и, как правило, сопровождающееся интенсивными головными болями. Примерно 20-30% страдающих мигренью испытывают ауру, включающую очаговые неврологические явления, предшествующие и/или сопровождающие это событие. Считают, что CGRP играет заметную роль в развитии мигрени. Например, выявлено, что концентрации CGRP в плазме повышаются в крови яремной вены в течение фазы головной боли при мигрени в отличие от других нейропептидов. Кроме того, согласно Arulmozhi et al. у лиц, страдающих мигренью, выявлены: (1) строгая корреляция между концентрацией CGRP в плазме и мигренью; (2) вливание CGRP приводит к мигренеподобной головной боли; (3) повышены исходные уровни CGRP и (4) изменения уровней CGRP в плазме во время приступов мигрени значительно коррелируют с интенсивностью головной боли; Arulmozhi, D.K., et al., *Vas. Pharma.*, 43: 176-187 (2005). Кроме того, в *Journal of the International Association for the Study of Pain* PII:S0304-3959(11)00313-7; doi:10.1016/j.pain.2011.04.033, опубликованном в сети 6 июня 2011 г., Hou et al. сообщили, что экспрессия пептида P, связанного с геном кальцитонина, в кератиноцитах имеет значе-

ние для механизмов нейропатической и воспалительной боли.

Одним из эффективных средств для лечения мигрени является введение триптанов, являющихся семейством лекарственных средств на основе триптамина, включающим суматриптан и ризатриптан. Члены указанного семейства обладают сродством к различным рецепторам серотонина, включая 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub> и 5-HT<sub>1F</sub>. Члены указанного семейства лекарственных средств селективно сужают сосуды головного мозга, а также оказывают сосудосуживающее действие на коронарные сосуды; Durham, P.L., *New Eng. J. Med.*, 350 (11): 1073-75 (2004). Существует теоретический риск коронарного спазма у пациентов с установленным заболеванием сердца после введения, и после приема триптанов изредка могут возникать кардиологические события. Следует отметить, что они противопоказаны для больных коронарной недостаточностью.

Аналогичным образом, боль часто можно устранить путем введения некоторых наркотических средств или нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). Тем не менее, введение указанных терапевтических средств может привести к определенным отрицательным последствиям. НПВП способны вызывать почечную недостаточность, желудочно-кишечное кровотечение и дисфункцию печени. Наркотики способны вызывать тошноту, рвоту, нарушения психики и привыкание. Таким образом, для избежания некоторых из этих отрицательных последствий желательно выявить альтернативные способы лечения боли.

Считается, что CGRP, помимо мигрени, играет важную роль при многочисленных заболеваниях и нарушениях, включая, но не ограничиваясь другими состояниями, характеризующимися головной болью, и болью. В связи с предполагаемой вовлеченностью CGRP в указанные заболевания и расстройства в данной области техники остается потребность в композициях и способах, используемых для профилактики или лечения заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP, при отсутствии неблагоприятных побочных эффектов. В данной области техники остается особая потребность в композициях или способах, снижающих или подавляющих светобоязнь при заболеваниях или расстройствах, связанных с CGRP, например мигрени, головной боли и боли.

У больных мигренью при воздействии света обычно развиваются ухудшение боли и симптомы мигрени; это явление известно как светобоязнь. Светобоязнь также часто встречается при глазных заболеваниях, например ирите и увеите, и внутричерепных расстройствах, например менингите. В классическом зрительном пути свет активирует палочки и колбочки сетчатки, которые активируют ганглиозные клетки сетчатки, проецирующиеся через оптический нерв на латеральное колленчатое тело, верхнее двухолмие, а затем в зрительную кору. Этот путь включает данные, формирующие и не формирующие изображение. Новый путь (информация, не формирующая изображение) позволяет поддерживать нормальные циркадные ритмы через супрахиазмальное ядро и регулируется светочувствительными ганглионарными клетками сетчатки (ipRGC). Эти ipRGC не зависят от палочек и колбочек и содержат светочувствительный пигмент меланопсин.

Nosedá et al. (Nosedá, R. et al., A neural mechanism for exacerbation of headache by light. *Nat. Neurosci.* 13, 239-245 (2010)) исследовали слепых людей, страдающих мигренью, и установили корреляцию указанных результатов с моделями крысы, включающими отслеживание проекций ipRGC на области восприятия боли от твердой мозговой оболочки. Из всех слепых пациентов, страдающих мигренью, 6 не воспринимали свет из-за серьезного повреждения зрительного нерва или двусторонней энуклеации. У указанных субъектов наблюдалась аномальная картина сна и слабые реакции зрачков на свет. Мигрень у них не ухудшалась при воздействии света. В отличие от этого, у 14 слепых субъектов, способных воспринимать свет, несмотря на минимальное восприятие образов, наблюдался нормальный сон и нормальный световой рефлекс зрачков. Несмотря на распространенную дегенерацию палочек и колбочек, у указанных пациентов наблюдалось ухудшение симптомов мигрени при воздействии света во время приступов мигрени, что указывает на важную роль ipRGC, а не палочек и колбочек, для светобоязни. Указанные проекции сетчатки на области головного мозга, не формирующие изображение, проецируются на противоположную дорсокаудальную область заднего таламуса, о чем свидетельствует антероградная регистрация на крысах. Входящий сигнал ipRGC в этой области модулирует чувствительные нейроны, реагирующие на боль в твердой мозговой оболочке, которые также проецируются на эту область. Нейроны таламуса, чувствительные как к боли в твердой мозговой оболочке, так и к световому сигналу, широко проецируются на различные области коры, в том числе первичную соматосенсорную кору, первичную и вторичную моторную кору, теменную ассоциативную кору и на первичную и вторичную зрительную кору. Указанные кортикальные проекции могут помочь объяснить, в дополнение к светобоязни, другие распространенные симптомы мигрени, например двигательную слабость или нарушение координации, нарушения зрения и плохую концентрацию.

Светобоязнь также сопровождается другие менее частые, но также ухудшающие трудоспособность состояния, например кластерную головную боль и другие тройничные вегетативные цефалгии и блефароспазм. Механизмы, лежащие в основе светобоязни, вовлекают систему тройничного нерва. Светобоязнь у слепых пациентов предполагает вклад нервного тракта, не связанного со зрением. Кроме того, тройничные вегетативные цефалгии, группа малораспространенных заболеваний, сопровождающихся первичной головной болью, характеризуются односторонней болью, опосредованной тройничным нер-

вом, часто связанной с ипсилатеральной светобоязнью.

Стимуляция тройничных сенсорных нейронов приводит к высвобождению нейропептидов (включая вещество P и пептид, связанный с геном кальцитонина), приводящему к расширению кровеносных сосудов и активации тучных клеток, эндотелиальных клеток и тромбоцитов (нейрогенному воспалению), что приводит к мигрени. (Buzzi M.G., Dimitriadou V., Theoharides T.C., Moskowitz M.A. 5-Hydroxytryptamine receptor agonists for the abortive treatment of vascular headaches block mast cell, endothelial and platelet activation within the rat dura mater after trigeminal stimulation. *Brain Res* 1992;583:137-149). Во время острой мигренозной боли содержание CGRP повышено в крови наружной яремной вены (Goadsby P.J., Edvinsson L., Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol* 1990; 28:183-187), а триптаны снижают повышенные уровни CGRP. В моделях на животных мыши, сенсibilизированные по отношению к CGRP, демонстрируют более выраженное поведение, связанное с отвращением к свету, при воздействии экзогенного CGRP. Введение олцегепанта, антагониста рецептора CGRP, предотвращает светобоязнь у указанных мышей (см. Recober A., Kaiser E.A., Kuburas A., Russo A.F. Induction of multiple photophobic behaviors in a transgenic mouse sensitized to CGRP. *Neuropharmacology* 2010; 58:156-165).

Тем не менее, хотя предлагалось применение антител против CGRP или рецептора CGRP и их фрагментов для лечения мигрени, насколько известно авторам изобретения сообщения о полипептидном антагонисте CGRP или, в частности, антителе или фрагменте антитела против CGRP или рецептора CGRP, способном облегчать или предотвращать побочные эффекты CGRP, связанные со светобоязнью, *in vivo*, отсутствуют. Разработка новых полипептидов, действующих как ингибиторы взаимодействия CGRP/рецептор CGRP, например антител против CGRP или рецептора CGRP, или фрагментов антител против CGRP или рецептора CGRP, была бы полезной для пациентов, которые не реагируют на современные терапевтические средства для лечения мигрени, например триптаны, или пациентов, не способных принимать или переносить их в связи с их потенциальными сосудосуживающими эффектами.

#### **Сущность изобретения**

Настоящее изобретение относится к открытию, что полипептиды, ингибирующие взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, например антитела против CGRP или рецептора CGRP и фрагменты антител против CGRP или рецептора CGRP (в том числе Fab-фрагменты), обладающие специфичностью связывания с пептидом, связанным с геном кальцитонина человека (далее "CGRP"), а также фрагменты CGRP и рецептора CGRP, ингибирующие взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, можно применять для профилактики или ингибирования светобоязни, особенно CGRP-ассоциированной светобоязни. Авторы настоящего изобретения, в частности, описывают здесь в качестве примера антитело против CGRP, идентифицированное ниже как Ab3, которое очень эффективно облегчает или предотвращает светобоязнь, особенно эффекты CGRP, связанные со светобоязнью. Другими предпочтительными примерами для применения при предлагаемой терапии являются, в числе прочего, Ab6 и Ab10.

Соответственно настоящее изобретение относится к применению полипептидов, ингибирующих взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, например антител против CGRP или рецептора CGRP и фрагментов антител против CGRP или рецептора CGRP (в том числе Fab-фрагментов), обладающих специфичностью связывания с пептидом, связанным с геном кальцитонина человека (далее "CGRP"), а также фрагментов CGRP и рецептора CGRP, ингибирующих взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, предпочтительно антител против CGRP и фрагментов антител против CGRP для лечения или профилактики светобоязни. Настоящее изобретение охватывает лечение или профилактику любой светобоязни и, в частности, включает лечение или профилактику светобоязни, связанной с мигренью, а также других расстройств, связанных со светобоязнью, например кластерной головной боли и других тройничных вегетативных цефалгий и блефароспазма, депрессии, биполярных расстройств, агорафобии, менингита и светобоязни, связанной с заболеваниями глаз, аутизма, синдрома хронической усталости, менструальной мигрени и других состояний, связанных со светобоязнью.

Кроме того, настоящее изобретение включает способ определения подходящей терапевтической дозы или схемы приема кандидата-полипептида, ингибирующего взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, например антитела или фрагмента антитела против CGRP или рецептора CGRP, для человека на основании эффектов указанного полипептида, например антитела или фрагмента антитела, в поведенческой животной модели отвращения к свету у Nestin/hRAMP1 грызунов, подробно описанной ниже. Кроме того, настоящее изобретение относится к способам оценки подходящей терапевтической дозы или режима приема кандидата-полипептида, например антитела или фрагмента антитела против CGRP или рецептора CGRP в организме человека на основе результатов, полученных на модели CGRP у грызунов (модель животных нестин/hRAMP1).

В предпочтительных вариантах воплощения настоящее изобретение направлено на терапевтическое применение специфических антител и их фрагментов, обладающих специфичностью связывания с CGRP, в частности антител, обладающих желательной эпитопной специфичностью, высоким средством или авидностью и/или функциональными свойствами. В предпочтительных вариантах воплощения настоящее изобретение относится к анализам и применению антител, описанных здесь, включающих последовательности  $V_H$ ,  $V_L$  и CDR-полипептидов, описанные здесь, и полинуклеотиды, кодирующие их.

Предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения направлен на химерные или гуманизированные антитела и их фрагменты (в том числе Fab-фрагменты), способные связываться с CGRP или рецептором CGRP и/или ингибировать биологическую активность, опосредованную связыванием CGRP с рецептором CGRP ("CGRP-R").

В другом предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения указанные терапевтические средства используют полноразмерные антитела и их Fab-фрагменты, ингибирующие продукцию цАМФ, зависимость от CGRP-альфа-, CGRP-бета и CGRP крысы. В дополнительном предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения рассматриваются полноразмерные антитела и их Fab-фрагменты, снижающие расширение сосудов и ингибирующие или предотвращающие светобоязнь у реципиента после введения.

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения химерные или гуманизированные антитела и их фрагменты (в том числе Fab-фрагменты), способные связываться с CGRP или рецептором CGRP, можно применять в рамках способов, направленных на снижение, лечение или профилактику светобоязни, связанной с одним или более из следующих состояний: мигрени (с аурой или без нее), рака или опухолей, ангиогенеза, связанного с раковым или опухолевым ростом, ангиогенеза, связанного с выживанием рака или опухоли, потери массы тела, боли, гемиплегической мигрени, кластерных головных болей, менструальной мигрени, мигренозной невралгии, хронических головных болей, головных болей напряжения, общей головной боли, "приливов", хронической пароксизмальной гемикрании, вторичных головных болей вследствие основной структурной проблемы в области головы или шеи, черепной невралгии, синусных головных болей (например, связанных с синуситом), мигрени без головной боли, мигрени с тошнотой и рвотой и головных болей или мигрени, вызванных аллергией.

Распространенные причины светобоязни включают головные боли при мигрени, катаракту или тяжелые офтальмологические заболевания, например увеит или истирание роговицы. Расширенный список расстройств, связанных со светобоязнью, включает офтальмологические причины, например ахроматопию, аниридию, антихолинергические препараты, способные вызывать светобоязнь, парализуя сфинктер радужной оболочки, афакию (отсутствие хрусталика глаза), буфтальм (аномально узкий угол между роговицей и радужной оболочкой), катаракту, колбочковую дегенерацию, врожденные аномалии глаза, вирусный конъюнктивит (острый эпидемический конъюнктивит), истирание роговицы, дистрофию роговицы, язву роговицы, расстройство эпителия роговицы, например, вызванное инородным телом роговицы или кератитом, эктопию хрусталика, эндофтальмит, травму глаз, вызванную заболеванием, повреждением или инфекцией, например халазионом, эписклеритом, глаукомой, кератоконусом или гипоплазией зрительного нерва, гидрофтальм или врожденную глаукому, ирит, неврит зрительного нерва, синдром диспергирования пигмента, расширение зрачков (естественное или химически индуцированное), отслоение сетчатки, рубцы роговицы или склеры и увеит. Кроме того, причины светобоязни могут быть связаны с нервной или мочевыделительной системой, включая расстройства аутистического спектра, порок Киари, дислексию, энцефалит, включая миалгический энцефаломиелит или синдром хронической усталости, менингит, субарахноидальное кровоизлияние, опухоль задней черепной ямки, а также другие причины, например анкилозирующий спондилит, альбинизм, арибофлавиноз, бензодиазепины (длительное применение или отмену бензодиазепинов), химиотерапию, лихорадку чикунгунья, цистиноз, синдром Элерса-Данло, похмелье, грипп, инфекционный мононуклеоз, дефицит магния, отравление ртутью, мигрень, бешенство и тирозинемия II типа, также известную как "синдром Рихнера-Ханхарта". Кроме того, известно, что светобоязнь повышена при депрессии, биполярном расстройстве и агорафобии.

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения указанные антитела и их гуманизированные варианты для лечения или профилактики светобоязни можно получить из иммунных клеток (В-лимфоцитов) кролика и отобрать на основе их гомологии (идентичности последовательности) с последовательностями эмбрионального типа человека. Для указанных антител может требоваться минимальная (или может вообще не требоваться) модификация последовательности, что облегчает сохранение функциональных свойств после гуманизации. Еще один вариант воплощения настоящего изобретения направлен на фрагменты антител против CGRP или рецептора CGRP, включая  $V_H$ ,  $V_L$  и CDR-полипептиды, например, полученные из иммунных клеток кролика, и полинуклеотиды, кодирующие их, а также применение указанных фрагментов антител и полинуклеотидов, кодирующих их, для создания новых антител и полипептидных композиций, способных связываться с CGRP и/или комплексами CGRP/CGRP-R.

Настоящее изобретение также рассматривает конъюгаты антител против CGRP или рецептора CGRP и их связывающих фрагментов для лечения или профилактики светобоязни, конъюгированных с одной или более функциональных или обнаруживаемых молекул. Настоящее изобретение также рассматривает способы получения указанных химерных или гуманизированных антител против CGRP или CGRP-R или антител против комплексов CGRP/CGRP-R и их связывающих фрагментов для лечения или профилактики светобоязни. В одном варианте воплощения связывающие фрагменты включают, но не ограничиваются Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, scFv-фрагментами, SMIP (иммунофармацевтическими средствами на основе низкомолекулярных соединений), камелизированными антителами, нанотелами и IgNAR.

Варианты воплощения настоящего изобретения относятся к применению полипептидных ингибиторов CGRP/рецептора CGRP, например антител или фрагментов антител против CGRP или CGRP-R, и

фрагментов CGRP или CGRP-R, предпочтительно антител против CGRP или CGRP-R и их связывающих фрагментов для диагностики, оценки и лечения заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP или его аномальной экспрессией, особенно для лечения или профилактики светобоязни. Настоящее изобретение также рассматривает применение полипептидных ингибиторов CGRP/рецептора CGRP, например антител против CGRP или рецептора CGRP или фрагментов антител против CGRP или рецептора CGRP, в особенности фрагментов антител против CGRP для лечения заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP или его аномальной экспрессией, особенно для лечения или профилактики светобоязни.

Другие варианты воплощения настоящего изобретения относятся к продукции антител против CGRP или рецептора CGRP или их фрагментов в рекомбинантных клетках-хозяевах, например таких клетках млекопитающих, как клетки CHO, NSO или HEK 293, или клетках дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей.

#### **Краткое описание чертежей**

На фиг. 1 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab1.

На фиг. 2 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab2.

На фиг. 3 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab3.

На фиг. 4 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab4.

На фиг. 5 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab5.

На фиг. 6 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab6.

На фиг. 7 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab7.

На фиг. 8 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab8.

На фиг. 9 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab9.

На фиг. 10 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab10.

На фиг. 11 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab11.

На фиг. 12 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab12.

На фиг. 13 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab13.

На фиг. 14 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab14.

На фиг. 15 представлены данные твердофазного ИФА по связыванию CGRP-альфа, полученные согласно протоколу, описанному в примере 1 ниже, для антител Ab1, Ab2, Ab3 и Ab4.

На фиг. 16 представлены данные твердофазного ИФА по связыванию CGRP-альфа, полученные согласно протоколу, описанному в примере 1 ниже для антител Ab5, Ab6, Ab7 и Ab8.

На фиг. 17 представлены данные твердофазного ИФА по связыванию CGRP-альфа, полученные согласно протоколу, описанному в примере 1 ниже для антител Ab9, Ab10 и Ab14.

На фиг. 18 представлены данные твердофазного ИФА по связыванию CGRP-альфа, полученные согласно протоколу, описанному в примере 1 ниже для антител Ab11, Ab12 и Ab13.

На фиг. 19 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой продукции цАМФ антителами Ab1, Ab2 и Ab4, полученными в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 20 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой продукции цАМФ антителом Ab3, полученным в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 21 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой продукции цАМФ антителами Ab5 и Ab6, полученными в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 22 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой продукции цАМФ антителами Ab7, Ab8, Ab9 и Ab10, полученными в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 23 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой продукции цАМФ антителами Ab11, Ab12 и Ab13, полученными в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 24 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой продукции цАМФ антителом Ab14, полученным в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 25 продемонстрировано ингибирование CGRP-бета-зависимой продукции цАМФ антите-

лами Ab1, Ab2 и Ab3, полученными в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 26 продемонстрировано ингибирование CGRP-бета-зависимой продукции цАМФ антителами Ab4, Ab5 и Ab6, полученными в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 27 продемонстрировано ингибирование CGRP-бета-зависимой продукции цАМФ антителами Ab7 и Ab8, полученными в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 28 продемонстрировано ингибирование CGRP-бета-зависимой продукции цАМФ антителами Ab9, Ab10 и Ab14, полученными в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 29 продемонстрировано ингибирование CGRP-бета-зависимой продукции цАМФ антителами Ab11, Ab12 и Ab13, полученными в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 30 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителами Ab1, Ab2, Ab4 и Ab5, полученными в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 31 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителами Ab3 и Ab6, полученными в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 32 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителами Ab7 и Ab8, полученными в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 33 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителом Ab9, полученным в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 34 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителом Ab10, полученным в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 35 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителами Ab11 и Ab12, полученными в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 36 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителом Ab13, полученным в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 37 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителом Ab14, полученным в соответствии с протоколом, описанным в примере 1 ниже.

На фиг. 38 продемонстрировано ингибирование связывания CGRP, меченого радиоактивной меткой, с CGRP-R антителами Ab1-Ab13, полученными в соответствии с протоколом, описанным в примере 6 ниже.

На фиг. 39 продемонстрировано снижение расширения сосудов при введении антител Ab3 и Ab6, полученных в соответствии с протоколом, описанным в примере 7 ниже, после введения капсаицина в модели крысы по сравнению с контрольным антителом.

На фиг. 40 продемонстрировано снижение расширения сосудов при введении антитела Ab6, полученного в соответствии с протоколом, описанным в примере 7 ниже, в различных концентрациях после введения капсаицина в модели крысы по сравнению с контрольным антителом.

На фиг. 41 показано действие ICV инъекции CGRP у трансгенных мышей hRAMP1 и контрольных одноплетных мышей и, в частности, представлены данные, показывающие, что введение CGRP снижает время поведения на свету трансгенных мышей hRAMP1 по сравнению с контрольными одноплетными особями. Мышам вводили hCGRP (2 мкг) с помощью ICV-инъекции под наркозом и оставляли для восстановления на 30 мин. Мышей помещали по отдельности в двухкамерную освещенную/темную коробку и регистрировали передвижение в течение 30 мин. Шесть мышей тестировали одновременно в шести разных коробках. Каждая группа состояла из семи-девяти мышей.

Фиг. 42 содержит данные сравнения действия системной (в/б) инъекции антитела против CGRP (Ab3) на CGRP-опосредованное отвращение к свету. Ab3 в среде-носителе, среду-носитель и контрольное антитело в среде-носителе вводили в дозе 30 мг/кг мышам нестин/RAMP1, а затем мышам вводили CGRP путем ICV-инъекции. Данные в левой части графика представляют общее время на свету (в секундах) в течение первых 10 мин после введения CGRP, а данные на правой стороне графика представляют общее время на свету (в секундах), измеренное в течение первых 20 мин после инъекции CGRP. Данные показывают, что мыши, получавшие антитело против CGRP Ab3 (раскрытое ниже), характеризовались статистически значимым увеличением времени, проводимого на свету, по сравнению с мышами, получавшими контроли.

#### **Подробное описание предпочтительных вариантов воплощения**

Определения.

Следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными способами, протоколами, линиями клеток, видами или родами животных и реагентами, описанными здесь, поскольку все это может изменяться. Кроме того, следует понимать, что терминология, которая используется здесь, предназначена лишь для целей описания конкретных вариантов воплощения и не должна рассматриваться в качестве ограничивающей рамки настоящего изобретения, которые должны ограничиваться только прилагаемой формулой изобретения. Как используется здесь, формы единственного числа включают определяемые объекты во множественном числе, если контекст не диктует иное в явной форме. Так, например, ссылка на "клетку" включает множество таких клеток, а ссылка на "указанный белок" включает ссылку на один или более белков и их эквивалентов, известных специалистам в данной области техники,

и так далее. Если иное не указано явным образом, все технические и научные термины, использованные в настоящем документе, имеют значения, совпадающие с общепринятыми среди специалистов в области техники, к которой относится настоящее изобретение.

Пептид, связанный с геном кальцитонина (CGRP).

Как используется здесь, CGRP охватывает не только следующие аминокислотные последовательности CGRP-альфа и CGRP-бета Homo sapiens, доступные в American Peptides (Саннивейл, штат Калифорния, США) и Vachem (Торранс, штат Калифорния, США):

CGRP-альфа: ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNFVPTNVGSKAF-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 281), где N-концевой фенилаланин амидирован;

CGRP-бета: ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKSNTFVPTNVGSKAF-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 282), где N-концевой фенилаланин амидирован;

но и любые мембрано-связанные формы этих аминокислотных последовательностей CGRP, а также мутантные формы (мутеины), сплайс-варианты, изоформы, ортологи, гомологи и варианты указанной последовательности. В частности, CGRP здесь охватывает CGRP грызунов (крысы или мыши), а также CGRP других млекопитающих.

"Рецептор CGRP" или "CGRP-R" относится к рецептору - партнеру CGRP по связыванию, предпочтительно рецептору CGRP человека, однако охватывает другие разновидности CGRP-R, особенно CGRP-R грызунов (крысы или мыши), примата, не являющегося человеком, и других млекопитающих.

"Ингибитор CGRP/рецептора CGRP" здесь относится к любому полипептиду, ингибирующему взаимодействие CGRP и рецепторов CGRP, например антителам или фрагментам антител против CGRP или CGRP-R и фрагментам полипептидов CGRP или CGRP-R. Предпочтительно указанные ингибиторы ингибируют указанное взаимодействие *in vitro* и *in vivo* и ингибируют нежелательные побочные эффекты CGRP, включая отвращение к свету или светобоязнь.

"Светобоязнь" здесь относится к симптому патологической непереносимости зрительного восприятия света, иногда дополнительно определяемому по аномальному или иррациональному страху перед светом, или по наличию реальной физической светочувствительности глаз. В настоящем изобретении светобоязнь включает, в частности, отвращение к свету, связанное с мигренью, кластерной головной болью и другими неврологическими причинами поведения, связанного с отвращением к свету, которые могут вызвать мигрень или кластерную головную боль. Светобоязнь может развиваться у пациентов в результате нескольких различных заболеваний, связанных с глазами или нервной системой. Светобоязнь может быть вызвана повышенной реакцией на свет, начиная с любого этапа зрительного тракта, например: (i) слишком большим количеством света, попадающего в глаз, (ii) слишком большим количеством света, которое может попасть в глаз при его повреждении, например истирании роговицы и повреждении сетчатки, или при невозможности нормального сужения зрачка(ов) (вследствие повреждения глазодвигательного нерва), (iii) избыточным раздражением фоторецепторов сетчатки, (iv) избыточными электрическими импульсами зрительного нерва, и (v) избыточной реакцией в центральной нервной системе.

Распространенные причины светобоязни включают головные боли при мигрени, катаракту или тяжелые офтальмологические заболевания, например увеит или истирание роговицы. Расширенный список расстройств, связанных со светобоязнью, включает офтальмологические причины, например ахроматопию, аниридию, антихолинергические препараты, способные вызывать светобоязнь, парализуя сфинктер радужной оболочки, афакию (отсутствие хрусталика глаза), буфтальм (аномально узкий угол между роговицей и радужной оболочкой), катаракту, колбочковую дегенерацию, врожденные аномалии глаза, вирусный конъюнктивит (острый эпидемический конъюнктивит), истирание роговицы, дистрофию роговицы, язву роговицы, расстройство эпителия роговицы, например, вызванное инородным телом роговицы или кератитом, эктопию хрусталика, эндофтальмит, травму глаз, вызванную заболеванием, повреждением или инфекцией, например халазионом, эписклеритом, глаукомой, кератоконусом или гипоплазией зрительного нерва, гидрофтальм или врожденную глаукому, ирит, неврит зрительного нерва, синдром диспергирования пигмента, расширение зрачков (естественное или химически индуцированное), отслоение сетчатки, рубцы роговицы или склеры и увеит. Кроме того, причины светобоязни могут быть связаны с нервной или мочевыделительной системой, включая расстройства аутистического спектра, порок Киари, дислексию, энцефалит, включая миалгический энцефаломиелит или синдром хронической усталости, менингит, субарахноидальное кровоизлияние, опухоль задней черепной ямки, а также другие причины, например анкилозирующий спондилит, альбинизм, арибофлавиноз, бензодиазепины (длительное применение или отмену бензодиазепинов), химиотерапию, лихорадку чикунгунья, цистиноз, синдром Элерса-Данло, похмелье, грипп, инфекционный мононуклеоз, дефицит магния, отравление ртутью, мигрень, бешенство и тирозинемия II типа, также известную как "синдром Рихнера-Ханхарта". Кроме того, известно, что светобоязнь повышена при депрессии, биполярном расстройстве и агорафобии.

"Мигрень" (от греческих слов *hemi*, что означает "половина", и *kranion*, что означает "череп") является изнурительным состоянием, которое характеризуется головной болью от умеренной до тяжелой и тошнотой. Она приблизительно в три раза чаще встречается у женщин, чем у мужчин. Типичная головная боль при мигрени является односторонней (поражающей одну половину головы) и пульсирующей по своей природе и продолжается от 4 до 72 ч; симптомы включают тошноту, рвоту, светобоязнь (повы-

шенную чувствительность к свету), фонофобию (повышенную чувствительность к звуку); симптомы, как правило, усугубляются повседневной деятельностью. Примерно одна треть людей, страдающих мигренозной головной болью, воспринимают ауру - необычные визуальные, обонятельные или другие сенсорные ощущения, являющиеся признаком скорого приступа мигрени. Первоначальное лечение головных болей при мигрени обычно осуществляют с помощью анальгетиков против головной боли, противорвотного средства против тошноты и избегания провоцирующих факторов. Исследования близнецов показывают 60-65-процентную генетическую обусловленность склонности к развитию мигренозной головной боли. Кроме того, колебания уровней гормонов указывают на их отношение к мигрени: 75 процентов взрослых пациентов - женщины, хотя мигрень поражает приблизительно равное число мальчиков и девочек до полового созревания; известно, что склонность к мигренозной головной боли исчезает во время беременности, хотя у некоторых женщин мигрени могут участиться во время беременности.

"Эффективное лечение или профилактика светобоязни" здесь относится к ингибированию поведения, связанного с отвращением к свету, или светобоязни, или ингибированию наступления поведенческой реакции, связанной с отвращением к свету, или светобоязни у субъекта, нуждающегося в этом, например у субъекта с приступом мигрени или кластерной головной боли или у субъекта, склонного к мигрени или кластерной головной боли, или одному из других расстройств, связанных со светобоязнью, определенных здесь, после введения эффективного количества полипептида-ингибитора CGRP/рецептора CGRP согласно изобретению, например антитела или фрагмента антитела против CGRP согласно изобретению. Лечение можно осуществлять в виде монотерапии или в сочетании с другим активным агентом, например топираматом или дигидроэрготамином.

Виды дрожжей, компетентные по спариванию.

В настоящем изобретении предполагается широкий охват любых диплоидных или тетраплоидных дрожжей, которые можно вырастить в культуре. Такие виды дрожжей могут существовать в гаплоидной, диплоидной или другой полиплоидной форме. Клетки данной плоидности могут, при соответствующих условиях, размножаться в этой форме на протяжении неопределенного количества поколений. Диплоидные клетки могут также спорулировать, образуя гаплоидные клетки. Последовательное спаривание может привести к получению тетраплоидных штаммов за счет дальнейшего спаривания или слияния клеток диплоидных штаммов. Настоящее изобретение предусматривает использование гаплоидных дрожжей, а также диплоидных или других полиплоидных клеток дрожжей, полученных, например, путем спаривания или слияния сферопластов.

В одном варианте воплощения настоящего изобретения дрожжи, компетентные по спариванию, являются членом семейства *Saccharomycetaceae*, которое включает роды *Arxiozyma*; *Ascobotryozyma*; *Citromyces*; *Debaryomyces*; *Dekkera*; *Eremothecium*; *Issatchenkia*; *Kazachstania*; *Kluyveromyces*; *Kodamaea*; *Lodderomyces*; *Pachysolen*; *Pichia*; *Saccharomyces*; *Saturnispora*; *Tetrapisispora*; *Torulaspora*; *Williopsis*; и *Zygosaccharomyces*.

Другие типы дрожжей, потенциально применимые в настоящем изобретении, включают *Yarrowia*; *Rhodospotidium*; *Candida*; *Hansenula*; *Filobasium*; *Sporidiobolus*; *Bullera*; *Leucosporidium* и *Filobasidella*.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения дрожжи, компетентные по спариванию, являются членом рода *Pichia*. В дополнительном предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения дрожжи рода *Pichia*, компетентные по спариванию, принадлежат к одному из следующих видов: *Pichia pastoris*, *Pichia methanolica* и *Hansenula polymorpha* (*Pichia angusta*). В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения дрожжи рода *Pichia*, компетентные по спариванию, принадлежат к виду *Pichia pastoris*.

Гаплоидная дрожжевая клетка.

Клетка, содержащая одну копию каждого гена с его нормальной геномной (хромосомной) комплементарной цепью.

Полиплоидная дрожжевая клетка.

Клетка, содержащая более одной копии каждого гена с его нормальной геномной (хромосомной) комплементарной цепью.

Диплоидная дрожжевая клетка.

Клетка, содержащая две копии (аллеля) практически каждого гена с его нормальной геномной комплементарной цепью, обычно получаемая путем слияния (спаривания) двух гаплоидных клеток.

Тетраплоидная дрожжевая клетка.

Клетка, содержащая четыре копии (аллеля) практически каждого гена с его нормальной геномной комплементарной цепью, обычно получаемая путем слияния (спаривания) двух гаплоидных клеток. Тетраплоиды могут нести две, три, четыре или более различных экспрессионных кассет. Такие тетраплоиды можно получить у *S.cerevisiae* путем селективного спаривания гомозиготных гетероталлических *a/a* и *α/α* диплоидов, а у *Pichia* - путем последовательного спаривания гаплоидов с получением ауксотрофных диплоидов. Например, гаплоид [*met his*] можно спарить с гаплоидом [*ade his*], получая диплоид [*his*], а гаплоид [*met arg*] можно спарить с гаплоидом [*ade arg*], получая диплоид [*arg*]; затем скрещивание диплоид [*his*] × диплоид [*arg*] позволяет получить тетраплоидный прототроф. Специалист в данной области техники должен понимать, что сведения о преимуществах и применении диплоидных клеток также

могут быть применимы к тетраплоидным клеткам.

Спаривание дрожжей.

Процесс, при котором две гаплоидные дрожжевые клетки естественным образом сливаются, образуя одну диплоидную дрожжевую клетку.

Мейоз.

Процесс, при котором диплоидная дрожжевая клетка подвергается редукционному делению, образуя четыре гаплоидных споры. Каждая спора затем может прорасти и образовать линию гаплоидных вегетативно растущих клеток.

Селектируемый маркер.

Селектируемый маркер является геном или фрагментом гена, придающим клетке, принимающей указанный ген, например, за счет трансформации, фенотип роста (физическую характеристику роста). Селективный маркер позволяет указанной клетке выжить и развиваться в селективной ростовой среде в условиях, когда клетки, не получившие указанного селективного маркерного гена, не могут расти. Селективные маркерные гены в целом делятся на несколько типов, в том числе положительные селективные маркерные гены, например ген, придающий клетке устойчивость к антибиотику или другому лекарственному средству, температуре при скрещивании двух мутантов, чувствительных к температуре ("ts"-мутантов) или трансформации ts-мутанта; отрицательные селективные маркерные гены, например ген биосинтеза, который придает клетке способность к росту в среде без определенного питательного вещества, необходимого для всех клеток, которые не содержат указанного гена биосинтеза, или мутантный ген биосинтеза, придающий клетке неспособность получать ростовое преимущество перед клетками, не имеющими гена дикого типа и т.п. Подходящие маркеры включают, но не ограничиваются следующими: ZEO; G418; LYS3; MET1; MET3a; ADE1; ADE3; URA3 и т.п.

Экспрессирующий вектор.

Указанные ДНК-векторы содержат элементы, которые облегчают манипулирование экспрессией чужеродного белка в клетке-хозяине-мишени. В целях удобства манипулирование последовательностями и продукция ДНК для трансформации сначала выполняется в бактериальном хозяине, например *E. coli*, и, как правило, векторы должны содержать последовательности для облегчения таких манипуляций, включая бактериальный сайт инициации репликации и соответствующий бактериальный селективный маркер. Селективные маркеры кодируют белки, необходимые для выживания или роста трансформированных клеток-хозяев, выращенных в селективной культуральной среде. Клетки-хозяева, не трансформированные вектором, содержащим селективный ген, не выживут в указанной культуральной среде. Типичные селективные гены кодируют белки, которые (а) придают устойчивость к антибиотикам или другим токсинам, (б) восполняют ауксотрофную недостаточность или (с) поставляют критические питательные вещества, недоступные в сложных средах. Типичные векторы и способы трансформации дрожжей описаны, например, в Burke, D., Dawson, D., & Stearns, T. (2000). *Methods in yeast genetics: a Cold Spring Harbor Laboratory course manual*. Plainview, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Экспрессирующие векторы для использования в способах по изобретению также должны включать специфические последовательности дрожжей, в том числе селективный ауксотрофный или лекарственный маркер для идентификации трансформированных штаммов дрожжей. Лекарственный маркер препарат можно в дальнейшем использовать для амплификации количества копий вектора в дрожжевой клетке-хозяине.

Интересующая исследователя последовательность, кодирующая полипептид, функционально связана с регуляторными последовательностями транскрипции и трансляции, обеспечивающими экспрессию полипептида в дрожжевых клетках. Указанные компоненты вектора могут включать одно или более из следующего: энхансерный элемент, промотор и последовательность терминатора транскрипции, но не ограничиваются ими. Кроме того, можно включать последовательности для секреции полипептида, например сигнальную последовательность и т.п. Дрожжевой сайт инициации репликации является необязательным, поскольку векторы экспрессии часто интегрируются в геном дрожжей. В одном варианте воплощения настоящего изобретения представляющий интерес полипептид функционально связан или объединен с последовательностями, обеспечивающими оптимизированную секрецию полипептида из диплоидных клеток дрожжей.

Нуклеиновые кислоты являются "функционально связанными", если они вступают в функциональное взаимодействие с другой нуклеотидной последовательностью. Например, ДНК сигнальной последовательности функционально связана с ДНК полипептида, если она экспрессируется в виде белка-предшественника, участвующего в секреции полипептида; промотор или энхансер функционально связаны с кодирующей последовательностью, если они влияют на транскрипцию этой последовательности. В общем случае "функционально связанные" означает, что связанные последовательности ДНК непрерывны, а в случае секреторного лидера, непрерывны и в рамках считывания. Однако энхансеры не обязательно должны быть непрерывными. Связывание осуществляется лигированием в подходящих сайтах рестрикции или, в качестве альтернативы, с помощью способа ПЦР/рекомбинации, известного специалистам в данной области техники (Gateway® Technology; Invitrogen, Карлсбад, штат Калифорния, США). Если такие сайты отсутствуют, в соответствии с общепринятой практикой используют синтетические олиго-

нуклеотидные адаптеры или линкеры. Промоторы являются нетранслируемыми последовательностями, расположенными выше (5') стартового кодона структурного гена (обычно в пределах приблизительно от 100 до 1000 п.о.), которые контролируют транскрипцию и трансляцию определенных нуклеотидных последовательностей, с которыми они функционально связаны. Такие промоторы делятся на несколько классов: индуцибельные, конститутивные и репрессуемые промоторы (повышающие уровни транскрипции в ответ на отсутствие репрессора). Индуцибельные промоторы могут инициировать повышенные уровни транскрипции ДНК, находящейся под их контролем, в ответ на некоторые изменения условий культивирования, например, в присутствии или в отсутствие питательного вещества или при изменении температуры.

Фрагмент дрожжевого промотора может также служить в качестве сайта гомологичной рекомбинации и интеграции экспрессирующего вектора в указанный сайт генома дрожжей; в качестве альтернативы, в качестве сайта гомологичной рекомбинации используется селективный маркер. Трансформация *Pichia* описана в Cregg et al. (1985) *Mol. Cell. Biol.* 5:3376-3385.

Примеры подходящих промоторов *Pichia* включают промотор AOX1 (Cregg et al. (1989) *Mol. Cell. Biol.* 9:1316-1323); промотор ICL1 (Menendez et al. (2003) *Yeast* 20(13): 1097-108); промотор глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAP) (Waterham et al. (1997) *Gene* 186(1):37-44) и промотор FLD1 (Shen et al. (1998) *Gene* 216(1):93-102). Промотор GAP является сильным конститутивным промотором, а промоторы AOX и FLD1 являются индуцибельными.

Другие промоторы дрожжей включают ADH1, промотор алкогольдегидрогеназы II, GAL4, PHO3, PHO5, Рук и химерные промоторы, полученные из них. Кроме того, в настоящем изобретении можно применять не-дрожжевые промоторы, например промоторы млекопитающих, насекомых, растений, рептилий, амфибий, вирусов и птиц. В наиболее типичном случае промотор включает промотор млекопитающих (потенциально эндогенный для экспрессируемых генов) или включает дрожжевой или вирусный промотор, который обеспечивает эффективную транскрипцию в дрожжевых системах.

Интересующие исследователя полипептиды можно рекомбинантно получать не только напрямую, но и в качестве гибридного полипептида с гетерологичным полипептидом, например сигнальной последовательностью или другим полипептидом, содержащим специфический сайт расщепления на N-конце зрелого белка или полипептида. В общем случае сигнальная последовательность может быть компонентом вектора или частью кодирующей последовательности полипептида, вставленной в вектор. Предпочтительно выбираемой гетерологичной сигнальной последовательностью является последовательность, распознаваемая и подвергаемая процессингу посредством одного из стандартных путей, доступных в клетке-хозяине. Доказала свою эффективность сигнальная последовательность пре-про-фактора альфа *S. cerevisiae* при секреции различных рекомбинантных белков из *P. pastoris*. Другие дрожжевые сигнальные последовательности включают сигнальную последовательность альфа-фактора спаривания, сигнальную последовательность инвертазы и сигнальные последовательности, полученные из других секретрируемых полипептидов дрожжей. Кроме того, указанные сигнальные пептидные последовательности можно модифицировать для обеспечения повышенной секреции в диплоидных дрожжевых экспрессионных системах. Другие представляющие интерес сигнальные последовательности для секреции также включают сигнальные последовательности млекопитающих, которые могут быть гетерологичными по отношению к секретрируемому белку, или могут являться нативной последовательностью секретрируемого белка. Сигнальные последовательности включают последовательности предшественников пептидов, а в некоторых случаях могут включать последовательности пропептидов. Многие такие сигнальные последовательности известны в данной области техники, включая сигнальные последовательности, обнаруженные в цепях иммуноглобулина, например последовательность пре-про-токсина K28, РНА-Е, FАСЕ, МСР-1 человека, сигнальные последовательности человеческого сывороточного альбумина, тяжелую цепь Ig человека, легкую цепь Ig человека и т.п.; например, см. Hashimoto et al., *Protein Eng* 11(2) 75 (1998) и Kobayashi et al., *Thegareptic Apheresis* 2(4) 257 (1998). Транскрипцию можно увеличить путем инсерции последовательности активатора транскрипции в вектор. Указанные активаторы являются *цис*-действующими элементами ДНК, обычно длиной от приблизительно 10 до 300 п.о., которые действуют на промотор, усиливая транскрипцию с него. Энхансеры транскрипции являются сравнительно независимыми по отношению к ориентации и положению, обнаруживаясь 5'- и 3'- по отношению к единице транскрипции в пределах интрона, а также внутри самой кодирующей последовательности. Энхансер можно внедрить в экспрессирующий вектор в 5' или 3'-направлении от кодирующей последовательности, однако предпочтительно - в 5'-направлении от промотора.

Векторы для экспрессии, используемые в клетках-хозяевах эукариот, также могут содержать последовательности, необходимые для терминации транскрипции и стабилизации мРНК. Такие последовательности обычно доступны в 3'-направлении от кодона терминации трансляции в нетранслируемых областях эукариотической или вирусной ДНК или кДНК. Указанные области содержат нуклеотидные сегменты, транскрибируемые в виде полиаденилированных фрагментов в нетранслируемой части мРНК.

Для конструирования подходящих векторов, содержащих один или более из вышеперечисленных компонентов, используют стандартные методики лигирования или способы ПЦР/рекомбинации. Выделенные плазмиды или фрагменты ДНК расщепляют, оптимизируют и повторно лигируют в форме, жела-

тельной для получения требуемых плазмид, или обрабатывают с помощью способов рекомбинации. Для анализа с целью подтверждения правильности последовательностей сконструированных плазмид смеси, полученные при лигировании, используют для трансформации клеток-хозяев, и в случае необходимости выполняют отбор успешных трансформантов по устойчивости к антибиотикам (например, ампициллину или зеоцину). Плазмиды из трансформантов выделяют, анализируют с помощью гидролиза эндонуклеазой рестрикции и/или секвенируют.

В качестве альтернативы рестрикции и лигированию фрагментов для инсерции последовательностей ДНК в вектор можно использовать способы рекомбинации, основанные на att-сайтах и ферментах рекомбинации. Такие способы описаны, например, в статье Landy (1989) *Ann.Rev.Biochem.* 55:913-949; и известны специалистам в данной области техники. Такие способы используют межмолекулярную рекомбинацию ДНК, опосредуемую смесью рекомбинантных белков, кодируемых фагом лямбда и *E. coli*. Рекомбинация происходит между специфическими сайтами присоединения (att) на взаимодействующих молекулах ДНК. Описание att-сайтов см. в Weisberg and Landy (1983) *Site-Specific Recombination in Phage Lambda*, in *Lambda II*, Weisberg, ed. (Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Press), p. 211-250. Сегменты ДНК, фланкирующие сайты рекомбинации, меняются местами таким образом, что после рекомбинации указанные att-сайты являются гибридными последовательностями, состоящими из последовательностей, предоставленных каждым исходным вектором. Рекомбинация может происходить между ДНК любой топологии.

Att-сайты можно внедрить в интересующую исследователя последовательность путем лигирования интересующей последовательности с соответствующим вектором; получения ПЦР-продукта, содержащего сайты att B, за счет использования специфических праймеров; получения библиотеки кДНК, клонированной в соответствующем векторе, содержащем att-сайты; и т.п.

Фолдинг, как используется здесь, относится к трехмерной структуре полипептидов и белков, где взаимодействия между аминокислотными остатками стабилизируют структуру. Хотя нековалентные взаимодействия играют важную роль в определении структуры, обычно исследуемые белки содержат внутри- и/или межмолекулярные ковалентные дисульфидные связи, образованные двумя остатками цистеина. Для естественных белков и полипептидов или их производных и вариантов правильный фолдинг обычно является механизмом, приводящим к оптимальной биологической активности; его можно легко контролировать с помощью анализов активности, например, связывания лигандов, ферментативной активности и т.д. В некоторых случаях, например, если желательный продукт имеет синтетическое происхождение, анализы, основанные на биологической активности, имеют меньшее значение. Правильный фолдинг таких молекул можно определить на основе физических свойств, энергетических соображений, моделирования и т.п. Хозяина для экспрессии можно дополнительно модифицировать путем внедрения последовательностей, кодирующих один или более ферментов, улучшающих фолдинг и образование дисульфидных связей, т.е. фолдаз, шаперонинов и т.д. Такие последовательности можно конститутивно или индуцибельно экспрессировать в дрожжевой клетке-хозяине с помощью векторов, маркеров и т.д., как известно в данной области техники. В предпочтительном случае последовательности, включая транскрипционные регуляторные элементы, достаточные для желательной картины экспрессии, стабильно интегрированы в геном дрожжей с помощью сайт-специфических способов.

Например, PDI эукариот является не только эффективным катализатором окисления цистеина белка и изомеризации дисульфидных связей, но также проявляет шаперонную активность. Совместная экспрессия PDI может облегчить продукцию активных белков, содержащих множественные дисульфидные связи. Кроме того, представляет интерес экспрессия VIP (белок, связывающий тяжелые цепи иммуноглобулинов); циклофилина и т.п. В одном варианте воплощения настоящего изобретения каждый из гаплоидных родительских штаммов экспрессирует собственный фермент фолдинга, например один штамм может экспрессировать VIP, а другой штамм может экспрессировать PDI или их комбинации.

Термины "желательный белок" или "желательное антитело" взаимозаменяемы и в целом относятся к исходному антителу, специфичному по отношению к мишени, т.е. CGRP или рецептору CGRP, или химерному или гуманизированному антителу, или его связывающему фрагменту, получаемому из него, как описано здесь. Термин "антитело" предназначен для включения любой молекулярной структуры определенной формы, содержащей полипептидную цепь, которая соответствует эпитопу и распознает его, причем одно или более нековалентных связывающих взаимодействий стабилизируют комплекс между указанной молекулярной структурой и эпитопом. Молекула-прототип антитела является иммуноглобулином, и все типы иммуноглобулинов, IgG, IgM, IgA, IgE, IgD и т.д., из всех источников, например человека, грызунов, кролика, коровы, овцы, свиньи, собаки, других млекопитающих, кур, других птиц и т.д., считаются "антителами". Предпочтительным источником для продукции антител, пригодным в качестве исходного материала согласно изобретению, являются кролики. Описаны многочисленные кодирующие последовательности антител; другие последовательности можно найти с помощью способов, хорошо известных в данной области техники. Их примеры включают химерные антитела, антитела человека и антитела других млекопитающих, гуманизированные антитела, одноцепочечные антитела (например, scFv), камелизированные антитела, нанотела, IgNAR (одноцепочечные антитела, полученные от акул), иммунофармацевтические средства на основе модульных белков малого размера (SMTP) и такие фраг-

менты антител, как Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> и т.п.; см. Streltsov V.A., et al., Structure of a shark IgNAR antibody variable domain and modeling of an early-developmental isotype, *Protein Sci.* 2005 Nov; 14(11):2901-9. Epub 2005 Sep 30; Greenberg A.S., et al., A new antigen receptor gene family that undergoes rearrangement and extensive somatic diversification in sharks, *Nature.* 1995 Mar 9; 374 (6518): 168-73; Nuttall S.D., et al., Isolation of the new antigen receptor from wobbegong sharks, and use as a scaffold for the display of protein loop libraries, *Mol Immunol.* 2001 Aug; 38(4):313-26; Hamers-Casterman C., et al., Naturally occurring antibodies devoid of light chains, *Nature.* 1993 Jun 3; 363(6428):446-8; Gill D.S., et al., Biopharmaceutical drug discovery using novel protein scaffolds, *Curr Opin Biotechnol.* 2006 Dec; 17(6):653-8. Epub 2006 Oct 19.

Например, антитела или антиген-связывающие фрагменты можно продуцировать с помощью генной инженерии. При этой методике, как и при других способах, антитело-продуцирующие клетки сенсibiliзируют желательным антигеном или иммуногеном. Матричную РНК, выделенную из антитело-продуцирующих клеток, используют в качестве матрицы для получения кДНК с помощью ПЦР-амплификации. Библиотеку векторов, каждый из которых содержит один ген тяжелой цепи и один ген легкой цепи, сохраняющие первоначальную антигенную специфичность, получают путем инсерции соответствующих участков амплифицированной кДНК иммуноглобулина в экспрессирующие векторы. Комбинаторную библиотеку конструируют путем объединения библиотеки генов тяжелых цепей с библиотекой генов легких цепей. Это приводит к получению библиотеки клонов, которые совместно экспрессируют тяжелую и легкую цепи (аналогичные Fab-фрагменту или антиген-связывающему фрагменту молекулы антитела). Векторы, которые несут эти гены, совместно переносят в клетку-хозяина путем трансфекции. При индукции синтеза генов антитела в трансфицированной клетке-хозяине белки тяжелых и легких цепей подвергаются самосборке, образуя активные антитела, которые можно обнаружить путем скрининга с антигеном или иммуногеном.

Последовательности, кодирующие интересующие исследователя антитела, включают нативные последовательности, а также нуклеиновые кислоты, последовательность которых в силу вырожденности генетического кода не идентична последовательности раскрытых нуклеиновых кислот, и их варианты. Варианты полипептидов могут включать аминокислотные (АК) замены, добавления или делеции. Аминокислотные замены могут быть консервативными аминокислотными заменами или заменами для устранения несущественных аминокислот, например, для модификации сайта гликозилирования или минимизации неправильного фолдинга путем замены или делеции одного или более остатков цистеина, ненужных для функционирования. Можно сконструировать варианты, сохраняя или повышая биологическую активность определенной области белка (например, функционального домена, каталитических аминокислотных остатков и т.д.). Варианты также включают фрагменты полипептидов, раскрытые здесь, особенно биологически активные фрагменты и/или фрагменты, соответствующие функциональным доменам. Известны методики мутагенеза клонированных генов *in vitro*. Настоящее изобретение также включает полипептиды, модифицированные с помощью обычных молекулярно-биологических методик с целью улучшения их устойчивости к протеолитической деградации или оптимизации растворимости или для их лучшего соответствия требованиям, предъявляемым к терапевтическим агентам. Химерные антитела можно получить рекомбинантными способами путем объединения вариабельных областей легких и тяжелых цепей (V<sub>L</sub> и V<sub>H</sub>), полученных из антитело-продуцирующих клеток одного вида, с константными областями легких и тяжелых цепей из другого вида. Обычно в химерных антителах используют вариабельные области грызунов или кролика и константные области человека с целью получения антитела с доменами преимущественно человеческого происхождения. Продукция таких химерных антител хорошо известна в данной области техники, и ее можно осуществить с помощью стандартных средств (как описано, например, в патенте США № 5624659, полностью включенном в настоящий документ посредством ссылки). Кроме того, предполагается, что константные области человека в составе химерных антител по изобретению можно выбирать из константных областей IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Гуманизированные антитела сконструированы таким образом, что их иммуноглобулиновые домены более подобны доменам человека, и включают только определяющие комплементарность области антитела животного происхождения. Это достигается путем тщательного изучения последовательности гипервариабельных петель вариабельных областей моноклонального антитела и их адаптации к структуре цепей антитела человека. Хотя указанный процесс на первый взгляд сложен, его просто осуществить на практике; см., например, патент США № 6187287, полностью включенный в настоящий документ посредством ссылки.

В дополнение к целым иммуноглобулинам (или их рекомбинантным аналогам) можно синтезировать фрагменты иммуноглобулинов, включающие сайт связывания эпитопа (например, Fab', F(ab')<sub>2</sub> или другие фрагменты). "Фрагмент" или минимальные иммуноглобулины можно сконструировать с использованием методики рекомбинантных иммуноглобулинов. Например, "Fv"-иммуноглобулины для использования в настоящем изобретении можно получить путем синтеза гибридной вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи. Кроме того, представляют интерес комбинации антител, например диатела, которые содержат два Fv с различной специфичностью. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты иммуноглобулинов включают SMIP (низкомолекулярные иммунофармацевтические средства), камелизированные антитела, нанотела и IgNAR. Иммуноглобулины и их фрагменты можно модифицировать после трансляции, например, путем добавления эффекторных

групп, например химических линкеров, обнаруживаемых молекул, например флуоресцентных красителей, ферментов, токсинов, субстратов, биолюминесцентных материалов, радиоактивных материалов, хемилюминесцентных групп и т.п., или фрагментов, обеспечивающих специфическое связывание, например стрептавидина, авидина или биотина и т.п., которые можно применять в способах и композициях по настоящему изобретению. Примеры дополнительных эффекторных молекул приведены ниже.

Полинуклеотидная последовательность "соответствует" полипептидной последовательности, если трансляция полинуклеотидной последовательности в соответствии с генетическим кодом приводит к получению указанной полипептидной последовательности (т.е. полинуклеотидная последовательность "кодирует" полипептидную последовательность); одна полинуклеотидная последовательность "соответствует" другой полинуклеотидной последовательности, если указанные две последовательности кодируют одну и ту же полипептидную последовательность. "Гетерологичная" область или домен ДНК-конструкта является идентифицируемым сегментом ДНК в более крупной молекуле ДНК, не присутствующим в связи с указанной более крупной молекулой в природе. Таким образом, если гетерологичная область кодирует ген млекопитающего, указанный ген обычно фланкирован ДНК, которая не фланкирует указанную геномную ДНК млекопитающего в геноме организма-источника. Другим примером гетерологичной области является конструктор, где сама кодирующая последовательность не встречается в природе (например, кДНК, где геномная кодирующая последовательность содержит интроны или синтетические последовательности, содержащие кодоны, отличающиеся от нативного гена). Аллельные вариации или природные мутации не приводят к появлению гетерологичной области ДНК, как определено здесь.

"Кодирующая последовательность" является последовательностью кодонов в рамке считывания, которые (с учетом генетического кода) соответствуют или кодируют последовательность белка или пептида. Две кодирующие последовательности соответствуют друг другу, если указанные последовательности или комплементарные им последовательности кодируют одни и те же аминокислотные последовательности. Кодирующую последовательность в сочетании с соответствующими регуляторными последовательностями можно транскрибировать и транслировать в полипептид. Сигнал полиаденилирования и последовательность терминации транскрипции обычно расположены в 3'-направлении от кодирующей последовательности. "Промоторная последовательность" является регуляторной областью ДНК, способной связывать РНК-полимеразу в клетке и инициировать транскрипцию расположенной ниже (в 3'-направлении) кодирующей последовательности. Промоторные последовательности, как правило, содержат дополнительные сайты связывания регуляторных молекул (например, факторов транскрипции), которые влияют на транскрипцию кодирующей последовательности. Кодирующая последовательность находится "под контролем" промоторной последовательности или "функционально связана" с промотором, если РНК-полимераза связывается с промоторной последовательностью в клетке и транскрибирует кодирующую последовательность в мРНК, которая затем, в свою очередь, транслируется в белок, кодируемый кодирующей последовательностью.

Векторы используются для введения чужеродного вещества, например ДНК, РНК или белка, в организм или клетку-хозяина. Типичные векторы включают рекомбинантные вирусы (для полинуклеотидов) и липосомы (для полипептидов). "ДНК-вектор" является репликоном, например плазмидой, фагом или космидой, к которому можно присоединить другой полинуклеотидный сегмент, вызывая репликацию присоединенного сегмента. "Экспрессирующий вектор" является ДНК-вектором, содержащим регуляторные последовательности, управляющие синтезом полипептида соответствующей клеткой-хозяином. Это обычно подразумевает промотор, связывающий РНК-полимеразу и инициирующий транскрипцию мРНК, а также сайты связывания рибосом и сигналы инициации для управления трансляцией мРНК в полипептид(ы). Внедрение полинуклеотидной последовательности в экспрессирующий вектор в надлежащем сайте и в правильной рамке считывания с последующей трансформацией соответствующей клетки-хозяина с помощью указанного вектора дает возможность продукции полипептида, кодируемого указанной полинуклеотидной последовательностью.

"Аmplификация" полинуклеотидных последовательностей является продукцией множественных копий определенной нуклеотидной последовательности *in vitro*. Амплифицированная последовательность обычно представлена в форме ДНК. Различные методики проведения такой амплификации описаны в обзорной статье Van Brunt (1990, *Bio/Technol.*, 8(4):291-294). Полимеразная цепная реакция или ПНР является прототипом амплификации нуклеиновых кислот, и использование ПНР здесь следует рассматривать в качестве примера других подходящих методик амплификации. Общая структура антител позвоночных хорошо изучена к настоящему времени (Edelman, G.M., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 190: 5 (1971)). Антитела состоят из двух одинаковых легких полипептидных цепей с молекулярной массой приблизительно 23000 Да ("легкой цепи") и двух одинаковых тяжелых цепей с молекулярной массой 53000-70000 ("тяжелой цепи"). Указанные четыре цепи соединены дисульфидными связями в "Y"-конфигурацию, где легкие цепи сгруппированы с тяжелыми цепями, начиная с горловины указанной "Y"-конфигурации. Фрагмент-"ветвь" "Y"-конфигурации обозначают как F<sub>ab</sub>-область; стеблевой фрагмент "Y"-конфигурации обозначают как F<sub>c</sub>-область. Аминокислотная последовательность ориентирована от N-конца в верхней части "Y"-конфигурации до C-конца в нижней части каждой цепи. N-конец содержит вариабельную область, обладающую специфичностью к антигену, вызвавшему синтез антитела, и составляет приблизи-

тельно 100 аминокислот в длину; существуют небольшие различия между легкими и тяжелыми цепями и от антитела к антителу.

Вариабельная область каждой цепи связана с константной областью, которая распространяется на оставшуюся длину цепи и в рамках определенного класса антител не меняется в зависимости от специфичности антитела (т.е. от антигена, вызвавшего синтез антитела). Существует пять известных основных классов константных областей, определяющих класс молекулы иммуноглобулина (IgG, IgM, IgA, IgD, и IgE, соответствующие константным областям тяжелой цепи  $\gamma$ ,  $\mu$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$  и  $\epsilon$  (гамма, мю, альфа, дельта или эпсилон). Константная область или класс определяет последующую эффекторную функцию антитела, в том числе активацию комплемента (Kabat, E.A., *Structural Concepts in Immunology and Immunochemistry*, 2nd Ed., p. 413-436, Holt, Rinehart, Winston (1976)) и другие типы клеточного ответа (Andrews, D.W., et al., *Clinical Immunobiology*, p. 1-18, W.B. Sanders (1980); Kohl, S., et al., *Immunology*, 48: 187 (1983)), в то время как вариабельная область определяет антиген, с которым взаимодействует антитело. Легкие цепи классифицируются как  $\kappa$  (каппа) или  $\lambda$  (лямбда). Каждый класс тяжелой цепи можно получить с легкой цепью каппа или лямбда. Легкая и тяжелая цепи ковалентно связаны друг с другом, и "хвостовые" фрагменты двух тяжелых цепей соединены друг с другом посредством ковалентных дисульфидных связей, если иммуноглобулины получают с помощью гибридом или В-клеток.

Выражение "вариабельная область" или "VR" относится к доменам в пределах каждой пары легкой и тяжелой цепей антитела, которые непосредственно вовлечены в связывание антитела с антигеном. Каждая тяжелая цепь несет на одном конце вариабельный домен ( $V_H$ ), за которым следует ряд константных доменов. Каждая легкая цепь несет на одном конце вариабельный домен ( $V_L$ ), а на другом конце - константный домен; константный домен легкой цепи выровнен с первым константным доменом тяжелой цепи, а вариабельный домен легкой цепи выровнен с вариабельным доменом тяжелой цепи.

Выражения "область, определяющая комплементарность", "гипервариабельная область" или "CDR" относятся к одной или более гипервариабельных или определяющих комплементарность областей (CDR), присутствующих в вариабельных областях легких или тяжелых цепей антитела (см. Kabat, E.A. et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, National Institutes of Health, Bethesda, Md., (1987)). Указанные выражения включают гипервариабельные области, соответствующие определению Kabat et al. ("*Sequences of Proteins of Immunological Interest*", Kabat E., et al., US Dept, of Health and Human Services, 1983), или гипервариабельные петли трехмерных структур антител (Chothia and Lesk, *J Mol. Biol.* 196 901-917 (1987)). CDR каждой цепи удерживаются в непосредственной близости друг от друга посредством каркасных областей и вместе с CDR другой цепи вносят вклад в образование антигенсвязывающего сайта. В пределах CDR присутствуют избранные аминокислоты, описанные как области, определяющие селективность (SDR), которые представляют собой критические контактные остатки, используемые CDR при взаимодействии антитело-антиген (Kashmiri, S., *Methods*, 36:25-34 (2005)).

Выражения "каркасная область" или "FR" относятся к одной или более каркасных областей, присутствующих в вариабельных областях легких и тяжелых цепей антитела (см. Kabat, E.A. et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, National Institutes of Health, Bethesda, Md., (1987)). Указанные выражения включают области аминокислотной последовательности, расположенные между CDR в пределах вариабельных областей легких и тяжелых цепей антитела.

Антитела против CGRP и их связывающие фрагменты, обладающие связывающей активностью по отношению к CGRP.

Антитело Ab1.

Настоящее изобретение в целом предусматривает ингибирование или профилактику светобоязни у субъекта, нуждающегося в этом, например страдающего мигренью или другим расстройством, связанным со светобоязнью, путем введения эффективного количества полипептида-ингибитора CGRP/рецептора CGRP, например антитела против CGRP или рецептора CGRP или его фрагмента, или фрагмента CGRP или рецептора CGRP, способного эффективно лечить или предотвращать светобоязнь. Это можно определить, например, с использованием соответствующих моделей *in vivo*, например модели трансгенных мышей, описанной в примере 8.

В одном типичном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела, происходящие от Ab1, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV  
SSRFKGSQSGTQFTLTISDLECAATAAYYCLGSYDCSSGDCVFVGGGTEVVVKR (SEQ ID

NO: 1).

Настоящее изобретение также включает химерные антитела, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV  
 SSRFKGSGSGTQFTLTISDLECAATAYYCLGSYDCSSGDCVFVGGGTEVVVKRTVAAP  
 SVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYQVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSST  
 YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGFSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 2).

Настоящее изобретение также включает химерные антитела, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность варьируемой области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGINDNTYYA  
 SWAKGRFTISRASSTVLDKMTSLTDTATYFCARGDIWGPGLVTVSS (SEQ ID NO:  
 3).

Настоящее изобретение также включает химерные антитела, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGINDNTYYA  
 SWAKGRFTISRASSTVLDKMTSLTDTATYFCARGDIWGPGLVTVSSASTKGPSVFP  
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT  
 VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK  
 KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS  
 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ  
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN  
 VFSCSVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 4).

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 5; SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности варьируемой области легкой цепи SEQ ID NO: 1 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 2, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 8; SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 10, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности варьируемой области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 4, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей варьируемой области легкой цепи и варьируемой области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепей, приведенных выше, включая все из них.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 4.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 5; SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности варьируемой области легкой цепи SEQ ID NO: 1 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 2.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 8; SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 10, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности варьируемой области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 4.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: варьируемой области легкой цепи SEQ ID NO: 1; варьируемой области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 5; SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7) варьируемой области легкой цепи SEQ ID NO: 1; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 8; SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 10) варьируемой области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3.

В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерное антитело против CGRP представляет собой Ab1, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 4, и обладающее по меньшей мере одной из биологических активностей, изложенных здесь. В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab1, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 1 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 1 и/или SEQ ID NO: 3 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab1 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab1, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab2.

В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 11).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSV  
FIFPPSDEQEKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS  
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12).

Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNT  
YYASWAKGRFTISRDNKTTVYQLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 13).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNT  
YYASWAKGRFTISRDNKTTVYQLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSSASTK  
GPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS  
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPAPPELLGGPSVF  
LFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYAST  
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSREEM  
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 14).

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 12, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 18; SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO:

14, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепей, приведенных выше, включая все из них.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для потенциального лечения или профилактики светобоязни. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 11 или SEQ ID NO: 12. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 12.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 18; SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 14.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 18; SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13.

В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab2, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 12 и SEQ ID NO: 14, и обладающее по меньшей мере одной из биологических активностей, изложенных здесь.

В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab2, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 11 и/или SEQ ID NO: 13 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab2 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab2, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab3.

В предпочтительном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже. Как раскрыто в примере 8, продемонстрировано, что в поведенческой модели отвращения к свету у трансгенной мыши, указанное антитело эффективно ингибировало CGRP-ассоциированную светобоязнь:

VLTQSPSSLSASVGRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYS

TSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIK  
R (SEQ ID NO: 21).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPKGKVPKQLIYSTSTLASGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSV  
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYS  
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 22).

Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариательной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNT  
YYASWAKGRFTISRDNKTTVYQLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ  
ID NO: 23).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNT  
YYASWAKGRFTISRDNKTTVYQLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSSASTK  
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS  
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFL  
FPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYAST  
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM  
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 24).

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 25; SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариательной области легкой цепи SEQ ID NO: 21 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 22, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариательной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 24, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариательной области легкой цепи и вариательной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепей, приведенных выше, включая все из них.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 21 или SEQ ID NO: 22. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 23 или SEQ ID NO: 24.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 25; SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариательной области легкой цепи SEQ ID NO: 21 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 22.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариательной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 24.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 21; варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 25; SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27) варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 21; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30) варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23.

В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерное антитело против CGRP для лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab3, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 24, и обладающее по меньшей мере одной из биологических активностей, изложенных здесь.

В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab3 Fab-фрагмент включает последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 21 и последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 21 и/или SEQ ID NO: 23 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab3 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab3, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

#### Антитело Ab4.

В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность варибельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGPPKQLIYDASTLASGV  
PSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCNDAAAYYCLGSYDCTNGDGFVFGGGTEVVKR (SEQ  
ID NO: 31).

Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGPPKQLIYDASTLASGV  
PSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCNDAAAYYCLGSYDCTNGDGFVFGGGTEVVKRTVAAP  
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNFPYFREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS  
YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGFSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 32).

Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность варибельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCSVSGIDLSGYMNVWRQAPGKLEWIGVIGINGATYYA  
SWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWPGTLTVSS (SEQ ID NO:  
33).

Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCSVSGIDLSGYMNVWRQAPGKLEWIGVINGATYYA  
 SWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWPGTLVTVSSASTKGPSVFP  
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT  
 VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK  
 KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS  
 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ  
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN  
 VFSCSVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 34).

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 35; SEQ ID NO: 36 и SEQ ID NO: 37, соответствующие областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 32, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 38; SEQ ID NO: 39 и SEQ ID NO: 40, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 33 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 34, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепей, приведенных выше, включая все из них.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для потенциального лечения или профилактики светобоязни. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 31 или SEQ ID NO: 32. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 33 или SEQ ID NO: 34.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 35; SEQ ID NO: 36 и SEQ ID NO: 37, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 32.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 38; SEQ ID NO: 39 и SEQ ID NO: 40, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 33 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 34.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 33; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 35; SEQ ID NO: 36 и SEQ ID NO: 37) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 38; SEQ ID NO: 39 и SEQ ID NO: 40) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 33.

В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизованное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab4, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 32 и SEQ ID NO: 34, и обладающее по меньшей мере одной из биологических активностей, изложенных здесь.

В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab4, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 33. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 31 и/или SEQ ID NO: 33 в указанном Fab,

при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab4 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab4, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab5.

В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCQASQSVYHNTYLAWYQKPKGKVPKQLIYDASTLASGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID  
NO: 41).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCQASQSVYHNTYLAWYQKPKGKVPKQLIYDASTLASGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS  
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTY  
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 42).

Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGIDLSGYMNVWRQAPGKGLEWVGVVIGINGATY  
YASWAKGRFTISRDNKTTVYVYLMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTLVTVSS (SEQ  
ID NO: 43).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGIDLSGYMNVWRQAPGKGLEWVGVVIGINGATY  
YASWAKGRFTISRDNKTTVYVYLMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTLVTVSSASTKG  
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL  
SSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL  
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY  
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT  
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ  
QGNVFCSCVMHEALHNYTQKSLSPGK (SEQ ID NO: 44).

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 45; SEQ ID NO: 46 и SEQ ID NO: 47, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 41 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 42, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 48; SEQ ID NO: 49 и SEQ ID NO: 50, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 44, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепей, приведенных выше, включая все из них.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 41 или SEQ ID NO: 42. В еще

одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 43 или SEQ ID NO: 44.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 45; SEQ ID NO: 46 и SEQ ID NO: 47, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 41 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 42.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 48; SEQ ID NO: 49 и SEQ ID NO: 50, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 44.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 41; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 45; SEQ ID NO: 46 и SEQ ID NO: 47) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 41; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 48; SEQ ID NO: 49 и SEQ ID NO: 50) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43.

В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab5, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 42 и SEQ ID NO: 44, и обладающее по меньшей мере одной из биологических активностей, изложенных здесь.

В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab5, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 41 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 41 и/или SEQ ID NO: 43 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab5 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab5, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab6.

В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGV  
PSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSDYCTNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID  
NO: 51).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGV  
PSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSDYCTNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS  
VFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKIDSTY  
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 52).

Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP,

последовательность варибельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYIMNWVRQAPGKGLEWVGVIGINGATY  
YASWAKGRFTISRDNKTTVYLQMNLSRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTIVTSS (SEQ  
ID NO: 53).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYIMNWVRQAPGKGLEWVGVIGINGATY  
YASWAKGRFTISRDNKTTVYLQMNLSRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTIVTSSASTKG  
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL  
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL  
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY  
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT  
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ  
QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 54).

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 56 и SEQ ID NO: 57, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гиперварибельным областям) последовательности варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 51 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 52, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 58; SEQ ID NO: 59 и SEQ ID NO: 60, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гиперварибельным областям) последовательности варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 54, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей варибельной области легкой цепи и варибельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепей, приведенных выше, включая все из них.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 51 или SEQ ID NO: 52. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 53 или SEQ ID NO: 54. В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 56 и SEQ ID NO: 57, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гиперварибельным областям) последовательности варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 51 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 52.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 58; SEQ ID NO: 59 и SEQ ID NO: 60, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гиперварибельным областям) последовательности варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 54.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 51; варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 56 и SEQ ID NO: 57) варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 51; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 58; SEQ ID NO: 59 и SEQ ID NO: 60) варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53.

В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой

Ab6, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 52 и SEQ ID NO: 54, и обладающее по меньшей мере одной из биологических активностей, изложенных здесь.

В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab6, Fab-фрагмент для потенциального лечения или профилактики светобоязни включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 51 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 51 и/или SEQ ID NO: 53 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab6 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab6, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

#### Антитело Ab7

В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNYNLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV  
SSRFKGSQSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSTGDCVFGGGTEVVVKR (SEQ  
ID NO: 61).

Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNYNLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV  
SSRFKGSQSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSTGDCVFGGGTEVVVKRTVAAP  
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS  
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 62).

Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QEQLKESGGRLVTPGTSLTLTCTVSGIDLNSHYMQWVRQAPGKGLEWIGVVGINGRTY  
YASWAKGRFTISRTSSTTVDLKMTRLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVTVSS (SEQ ID  
NO: 63).

Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QEQLKESGGRLVTPGTSLTLTCTVSGIDLNSHYMQWVRQAPGKGLEWIGVVGINGRTY  
YASWAKGRFTISRTSSTTVDLKMTRLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVTVSSASTKGPS  
VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS  
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFP  
PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV  
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN  
QVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG  
NVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 64).

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 65; SEQ ID NO: 66 и SEQ ID NO: 67, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 62, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 68; SEQ ID NO: 69 и SEQ ID NO: 70, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности

вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 64, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепей, приведенных выше, включая все из них.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 61 или SEQ ID NO: 62. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 63 или SEQ ID NO: 64. В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 65; SEQ ID NO: 66 и SEQ ID NO: 67, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 62.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 68; SEQ ID NO: 69 и SEQ ID NO: 70, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 64.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 65; SEQ ID NO: 66 и SEQ ID NO: 67) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 68; SEQ ID NO: 69 и SEQ ID NO: 70) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63.

В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab7, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 62 и SEQ ID NO: 64, и обладающее по меньшей мере одной из биологических активностей, изложенных здесь.

В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab7, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 61 и/или SEQ ID NO: 63 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab7 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab7, или их Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab8.

В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLASVGDRTINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV  
 PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSTGDCVFVGGGKVEIKR (SEQ ID  
 NO: 71).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLASVGDRTINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV  
 PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSTGDCVFVGGGKVEIKRTVAAPS  
 VFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTY  
 SLSSTLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 72).

Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариательной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNHYMQWVRQAPGKGLEWVGVVINGRT  
 YYASWAKGRFTISRDNKTTVYQLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ  
 ID NO: 73).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNHYMQWVRQAPGKGLEWVGVVINGRT  
 YYASWAKGRFTISRDNKTTVYQLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSSASTK  
 GPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS  
 LSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFL  
 FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY  
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT  
 KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ  
 QGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 74).

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 75; SEQ ID NO: 76 и SEQ ID NO: 77, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариательной области легкой цепи SEQ ID NO: 71 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 72, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 78; SEQ ID NO: 79 и SEQ ID NO: 80, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариательной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 74, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариательной области легкой цепи и вариательной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепей, приведенных выше, включая все из них.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 71 или SEQ ID NO: 72. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 73 или SEQ ID NO: 74.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 75; SEQ ID NO: 76 и SEQ ID NO: 77, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариательной области легкой цепи SEQ ID NO: 71 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 72.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 78; SEQ ID NO: 79 и SEQ ID NO: 80, соответствующих областям, определяющим ком-

плементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 74.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 75; SEQ ID NO: 76 и SEQ ID NO: 77) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 78; SEQ ID NO: 79 и SEQ ID NO: 80) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73.

В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизованное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab8, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 72 и SEQ ID NO: 74, и обладающее по меньшей мере одной из биологических активностей, изложенных здесь.

В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab8, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 71 и/или SEQ ID NO: 73 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab8 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab8, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab9.

В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV  
SSRFRGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ  
ID NO: 81).

Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV  
SSRFRGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCFGSYDCSRGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAP  
SVFIFPPSDEQEKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDDST  
YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 82).

Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSLLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIGLSSYYMQWVRQSPGRGLEWIGVIGSDGKTYYA  
TWAKGRFTISKTSSTTVDLRMASTTEDTATYFCTRGIWPGTLTVSS (SEQ ID NO:  
83).

Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIGLSSYYMQWVRQSPGRGLEWIGVIGSDGKTYYA  
 TWAKGRFTISKTSSTTVDLRMASTTEDTATYFCTRGDIWPGTLTVSSASTKGPSVFP  
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT  
 VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK  
 KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS  
 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ  
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN  
 VFSCSVMHEALHNNHYTKLSLSPGK (SEQ ID NO: 84).

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 85; SEQ ID NO: 86 и SEQ ID NO: 87, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 82, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89 и SEQ ID NO: 90, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 84, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепей, приведенных выше, включая все из них.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для потенциального лечения или профилактики светобоязни. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 81 или SEQ ID NO: 82. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 83 или SEQ ID NO: 84.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 85; SEQ ID NO: 86 и SEQ ID NO: 87, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 82.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89 и SEQ ID NO: 90, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 84.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 85; SEQ ID NO: 86 и SEQ ID NO: 87) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89 и SEQ ID NO: 90) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83.

В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab9, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 82 и SEQ ID NO: 84, и обладающее по меньшей мере одной из биологических активностей, изложенных здесь.

В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab9, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 81 и/или SEQ ID NO: 83 в указанном Fab,

при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab9 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, например Ab9, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или НЕК 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab10.

В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID  
NO: 91).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS  
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTY  
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 92).

Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTY  
YATWAKGRFTISRDNKTTVYQLQMNSLRAEDTAVYFCTRGDIVGQGLTIVTSS (SEQ  
ID NO: 93).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTY  
YATWAKGRFTISRDNKTTVYQLQMNSLRAEDTAVYFCTRGDIVGQGLTIVTSSASTKG  
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL  
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKTHTCPPCPPELLGGPSVFL  
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY  
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT  
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ  
QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 94).

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 95; SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 92, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 98; SEQ ID NO: 99 и SEQ ID NO: 100, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 94, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепей, приведенных выше, включая все из них.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве аль-

тернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 91 или SEQ ID NO: 92. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 93 или SEQ ID NO: 94.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 95; SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 92.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 98; SEQ ID NO: 99 и SEQ ID NO: 100, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 94.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 95; SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 98; SEQ ID NO: 99 и SEQ ID NO: 100) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93.

В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab10, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 92 и SEQ ID NO: 94, и обладающее по меньшей мере одной из биологических активностей, изложенных здесь.

В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab10, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 91 и/или SEQ ID NO: 93 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab10 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab10, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab11.

В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQTASPVSPAVGSTVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV  
SSRFKGGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ  
ID NO: 101).

Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQTASPVSPAVGSTVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV  
SSRFKGGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAP  
SVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYQKQWQVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSST  
YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 102).

Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность варибельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSLEESGGRLVTPGGSLTLTCTVSGIDVTNYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGVNGKRY  
 ASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVVSS (SEQ ID NO:  
 103).

Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSLEESGGRLVTPGGSLTLTCTVSGIDVTNYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGVNGKRY  
 ASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVVSSASTKGPSVF  
 PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV  
 TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK  
 KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS  
 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ  
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN  
 VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 104).

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 105; SEQ ID NO: 106 и SEQ ID NO: 107, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гиперварибельным областям) последовательности варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 101 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 102, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 108; SEQ ID NO: 109 и SEQ ID NO: 110, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гиперварибельным областям) последовательности варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 104, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей варибельной области легкой цепи и варибельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепей, приведенных выше, включая все из них.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 101 или SEQ ID NO: 102. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 103 или SEQ ID NO: 104.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 105; SEQ ID NO: 106 и SEQ ID NO: 107, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гиперварибельным областям) последовательности варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 101 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 102.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 108; SEQ ID NO: 109 и SEQ ID NO: 110, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гиперварибельным областям) последовательности варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 104.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 101; варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 105; SEQ ID NO: 106 и SEQ ID NO: 107) варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 101; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 108; SEQ ID NO: 109 и SEQ ID NO: 110) варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103.

В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab11, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 102 и SEQ ID NO: 104, и обладающее по меньшей мере одной из биологических активностей, изложенных здесь. В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab11, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 101 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 101 и/или SEQ ID NO: 103 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab11 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab11, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab12.

В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID  
NO: 111).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS  
VFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTY  
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 112).

Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGVNGKR  
YYASWAKGRFTISRDNKTTVYVYLMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ  
ID NO: 113).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGVNGKR  
YYASWAKGRFTISRDNKTTVYVYLMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSSASTK  
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS  
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFL  
FPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYAST  
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKAGQPREPQVYTLPPSREEM  
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 114).

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 115; SEQ ID NO: 116 и SEQ ID NO: 117, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 112, и/или одной или более из поли-

пептидных последовательностей SEQ ID NO: 118; SEQ ID NO: 119 и SEQ ID NO: 120, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 114, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепей, приведенных выше, включая все из них.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 111 или SEQ ID NO: 112. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 113 или SEQ ID NO: 114.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 115; SEQ ID NO: 116 и SEQ ID NO: 117, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 112.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 118; SEQ ID NO: 119 и SEQ ID NO: 120, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 114.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 115; SEQ ID NO: 116 и SEQ ID NO: 117) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 118; SEQ ID NO: 119 и SEQ ID NO: 120) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113.

В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизованное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab12, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 112 и SEQ ID NO: 114, и обладающее по меньшей мере одной из биологических активностей, изложенных здесь. В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab12, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 111 и/или SEQ ID NO: 113 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab12 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, например Ab12, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab13.

В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

AIVMTQTPSSKSVPGDVTINCQASESLYNNNALAWFQQKPGQPPKRLIYDASKLASG  
 VPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCGGYRSDSVDGVAFAGGTEVVVKR (SEQ  
 ID NO: 121).

Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

AIVMTQTPSSKSVPGDVTINCQASESLYNNNALAWFQQKPGQPPKRLIYDASKLASG  
 VPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCGGYRSDSVDGVAFAGGTEVVVKRTVAA  
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS  
 TYSLSSTLTLKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 122).

Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSVEESGGGLVQPEGLTLTCTASGFDFSSNAMWWVRQAPGKGLEWIGIYNGDGSTY  
 YASWVNGRFSISKTSSTTVTLQLNSLTVADTATYYCARDLDLWGPGLVTVSS (SEQ ID  
 NO: 123).

Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSVEESGGGLVQPEGLTLTCTASGFDFSSNAMWWVRQAPGKGLEWIGCIYNGDGSTY  
 YASWVNGRFSISKTSSTTVTLQLNSLTVADTATYYCARDLDLWGPGLVTVSSASTKGP  
 SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS  
 SVVTVPSLSLTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF  
 PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYR  
 VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK  
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ  
 GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 124).

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 125; SEQ ID NO: 126 и SEQ ID NO: 127, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 122, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 128; SEQ ID NO: 129 и SEQ ID NO: 130, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 124, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинации одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепей, приведенных выше, включая все из них.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 121 или SEQ ID NO: 122. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 123 или SEQ ID NO: 124.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 125; SEQ ID NO: 126 и SEQ ID NO: 127, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 122.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 128; SEQ ID NO: 129 и SEQ ID NO: 130, соответствующих областям, определяющим

комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 124.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 125; SEQ ID NO: 126 и SEQ ID NO: 127) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 128; SEQ ID NO: 129 и SEQ ID NO: 130) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123. В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab13, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 122 и SEQ ID NO: 124, и обладающее по меньшей мере одной из биологических активностей, изложенных здесь. В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab13, Fab-фрагмент для потенциального лечения или профилактики светобоязни включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 121 и/или SEQ ID NO: 123 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab13 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, например Ab13, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или НЕК 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab14.

В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID  
NO: 131).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS  
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY  
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 132).

Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTY  
YATWAKGRFTISRDNKTTVYLMQNSLRAEDTAVYFCTRDIWGQGLTVVSS (SEQ  
ID NO: 133).

Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTY  
 YATWAKGRFTISRDNSTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCTRGDWGGTLVTVSSASTKG  
 PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL  
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFL  
 FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY  
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT  
 KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ  
 QGNVFCFSVMNEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 134).

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 135; SEQ ID NO: 136 и SEQ ID NO: 137, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 132, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 138; SEQ ID NO: 139 и SEQ ID NO: 140, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 134, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинации одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепей, приведенных выше, включая все из них.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 131 или SEQ ID NO: 132. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 133 или SEQ ID NO: 134. В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 135; SEQ ID NO: 136 и SEQ ID NO: 137, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 132.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 138; SEQ ID NO: 139 и SEQ ID NO: 140, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 134.

Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 135; SEQ ID NO: 136 и SEQ ID NO: 137) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 138; SEQ ID NO: 139 и SEQ ID NO: 140) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133.

В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизованное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab14, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 132 и SEQ ID NO: 134, и обладающее по меньшей мере одной из биологических активностей, изложенных здесь. В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab14, Fab-фрагмент для потенциального лечения или профилактики светобоязни включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131 и после-

довательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 131 и/или SEQ ID NO: 133 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab14 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, например Ab14, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

В еще одном варианте воплощения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни могут находиться в одной или более из следующих неограничивающих форм: Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv и формы одноцепочечных Fv-антител. В предпочтительном варианте воплощения антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, описанные здесь, дополнительно включают последовательность константной каппа-области легкой цепи, включающую последовательность, представленную ниже:

VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS  
QESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ  
ID NO: 283).

В еще одном предпочтительном варианте воплощения антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, описанные здесь, дополнительно включают полипептидную последовательность константной гамма-1-области тяжелой цепи, включающую последовательность, представленную ниже:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAFSTSGV  
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP  
PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN  
AKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR  
EPQVYFPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS  
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMNEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 284).

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения рассматривает выделенное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающее последовательность V<sub>H</sub>-полипептида, выбранную из SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103, 113, 123 или 133, или ее вариант, и дополнительно включающее последовательность V<sub>L</sub>-полипептида, выбранную из SEQ ID NO: 1, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121 или 131, или ее вариант, где один или более из каркасных остатков (FR-остатков) в указанном V<sub>H</sub>- или V<sub>L</sub>-полипептиде замещен остатком другой аминокислоты, что приводит к получению антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, специфически связывающего CGRP. Настоящее изобретение рассматривает гуманизированные и химерные формы указанных антител. Химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни могут включать Fc, полученный из константных областей IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgG5, IgG6, IgG7, IgG8, IgG9, IgG10, IgG11, IgG12, IgG13, IgG14, IgG15, IgG16, IgG17, IgG18 или IgG19.

В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела или V<sub>H</sub>- или V<sub>L</sub>-полипептиды происходят или выбраны из одной или более популяций В-клеток кролика до начала процесса гуманизации, упомянутого здесь.

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP и их фрагменты не обладают специфичностью связывания с CGRP-R. В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP и их фрагменты ингибируют связывание CGRP с CGRP-R. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP и их фрагменты ингибируют связывание CGRP с CGRP-R и/или его дополнительными белками и/или мультимерами, и/или оказывают антагонистическое действие на их биологические эффекты. Как указано здесь, антитела и их фрагменты можно модифицировать после трансляции путем добавления эффекторных групп, например химических линкеров, обнаруживаемых молекул, например флуоресцентных красителей, ферментов, субстратов, биоломинесцентных материалов, радиоактивных материалов и хемилуминесцентных групп, или функциональных групп, например стрептавидина, авидина, биотина, цитотоксина, цитотоксического агента и радиоактивных материалов. Антитела или их фрагменты также можно химически модифицировать с целью получения дополнительных преимуществ, например повышенной растворимости, стабильности и времени циркуляции (период полужизни *in vivo*) полипептида, или пониженной иммуногенности (см. патент США № 4179337). Химические группы для модификации можно выбрать из водорастворимых полимеров, например полиэтиленгликоля, сополимеров этиленгликоля/пропиленгликоля, карбокси-

метилцеллюлозы, декстрана, поливинилового спирта и т.п. Антитела и их фрагменты можно модифицировать по случайным положениям в пределах молекулы или в заданных положениях в пределах молекулы; они могут включать одну, две, три или более присоединенных химических групп.

Указанный полимер может обладать любой молекулярной массой и быть разветвленным или неразветвленным. Для полиэтиленгликоля предпочтительная молекулярная масса составляет от приблизительно 1 до приблизительно 100 кДа (термин "приблизительно" указывает, что в препаратах полиэтиленгликоля некоторые молекулы могут весить больше, некоторые меньше установленной молекулярной массы) для простоты обращения и производства. Можно использовать другие размеры в зависимости от желательного терапевтического профиля (например, желательной продолжительности замедленного высвобождения, действия на биологическую активность, если таковое имеет место, простоты обращения, степени или отсутствия антигенности и других известных эффектов полиэтиленгликоля на терапевтический белок или его аналог). Например, полиэтиленгликоль может обладать средней молекулярной массой, приблизительно равной 200, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500, 10000, 10500, 11000, 11500, 12000, 12500, 13000, 13500, 14000, 14500, 15000, 15500, 16000, 16500, 17000, 17500, 18000, 18500, 19000, 19500, 20000, 25000, 30000, 35000, 40000, 50000, 55000, 60000, 65000, 70000, 75000, 80000, 85000, 90000, 95000 или 100000 кДа. Разветвленные полиэтиленгликоли описаны, например, в патенте США № 5643575; Morgurgo et al., Appl. Biochem. Biotechnol. 56:59-72 (1996); Vorobjev et al., Nucleosides Nucleotides 18:2745-2750 (1999) и Caliceti et al., Bioconj. Chem. 10:638-646 (1999), раскрытие каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

Существует несколько способов присоединения, доступных для специалистов в данной области техники, см., например, EP 0401384, включенный в настоящий документ посредством ссылки (присоединение ПЭГ к Г-КСФ), см. также Malik et al., Exp. Nematol. 20:1028-1035 (1992) (сообщение о пегилировании ГМ-КСФ с помощью трезилхлорида). Например, полиэтиленгликоль можно ковалентно связать через аминокислотные остатки с помощью реакционноспособной группы, например свободной аминогруппы или карбоксильной группы. Реакционноспособные группы являются группами, с которыми можно связать молекулу активированного полиэтиленгликоля. Аминокислотные остатки, содержащие свободную аминогруппу, могут включать остатки лизина и остатки N-концевой аминокислоты; остатки, содержащие свободную карбоксильную группу, могут включать остатки аспарагиновой кислоты, остатки глутаминовой кислоты и остаток C-концевой аминокислоты. Кроме того, в качестве реакционноспособной группы для присоединения молекул полиэтиленгликоля можно использовать сульфгидрильные группы. Для терапевтических целей является предпочтительным присоединение к аминогруппе, например к группе N-концевой аминокислоты или лизина.

Как указано выше, полиэтиленгликоль можно присоединить к белкам посредством связи с любым из ряда аминокислотных остатков. Например, полиэтиленгликоль можно связать с полипептидами посредством ковалентных связей с остатками лизина, гистидина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты или цистеина. Одну или более реакционноспособных химических групп можно использовать для присоединения полиэтиленгликоля к специфическим аминокислотным остаткам (например, лизина, гистидина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты или цистеина) или к аминокислотному остатку более чем одного типа (например, лизина, гистидина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, цистеина и их комбинациям). В качестве альтернативы антитела или их фрагменты могут обладать повышенным временем полужизни *in vivo* за счет объединения с альбумином (включая, но не ограничиваясь, рекомбинантным человеческим сывороточным альбумином или его фрагментами или вариантами (см., например, патент США № 5876969, выданный 2 марта 1999 г., патент EP 0 413 622 и патент США № 5766883, выданный 16 июня 1998 г., которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки)) или другими циркулирующими белками крови, например трансферрином или ферритином. В предпочтительном варианте воплощения полипептиды и/или антитела по настоящему изобретению (включая их фрагменты или варианты) объединяют со зрелой формой человеческого сывороточного альбумина (т.е. аминокислотами 1-585 человеческого сывороточного альбумина, как показано на фиг. 1 и 2 патента EP 0322094), который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Полинуклеотиды, кодирующие гибридные белки по изобретению, также входят в рамки изобретения. Что касается обнаруживаемых групп, другие типичные ферменты включают пероксидазу хрена, ацетилхолинэстеразу, щелочную фосфатазу, бета-галактозидазу и люциферазу, но не ограничиваются ими. Дополнительные типичные флуоресцентные материалы включают родамин, флуоресцеин, флуоресцеинизотиоцианат, умбеллиферон, дихлортриазиниламин, фикоэритрин и дансилхлорид, но не ограничиваются ими. Дополнительные типичные хемилюминесцентные группы включают люминол, но не ограничиваются им. Дополнительные типичные биоломинесцентные материалы включают люциферин и экворин, но не ограничиваются ими. Дополнительные типичные радиоактивные материалы включают иод-125 (<sup>125</sup>I), углерод-14 (<sup>14</sup>C), серу-35 (<sup>35</sup>S), тритий (<sup>3</sup>H) и фосфор-32 (<sup>32</sup>P), но не ограничиваются ими.

Что касается функциональных групп, типичные цитотоксические агенты включают метотрексат, аминокперин, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, цитарабин, 5-фторурацил, декарбазин; алкилирующие агенты, например мехлорэтамин, тиотепа, хлорамбуцил, мелфалан, кармустин (BSNU), митомицин C,

ломустин (CCNU), 1-метилнитрозомочевину, циклофосфамид, хлорметин, бусульфан, дибромманнит, стрептозотин, митомицин С, цис-дихлордиаминплатину (II) (DDP), цисплатин и карбоплатин (пароплатин), антрациклины, включая даунорубин (ранее дауномицин), доксорубин (адриамицин), деторубин, карминомицин, идарубин, эпирубин, митоксантрон и бисантрон; антибиотики, включая дактиномицин (ранее актиномицин D), блеомицин, калихемицин, митрамицин и антрамицин (АМС)) и антимиотические агенты, например алкалоиды барвинка, винкристин и винбластин, но не ограничиваются ими. Другие цитотоксические агенты включают паклитаксел (таксол), ризин, экзотоксин *Pseudomonas*, гемцитабин, цитохалазин В, грамицидин D, бромид этидия, эметин, этопозид, тенопозид, колхин, дигидроксиантрацидион, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол, пурамицин, прокарабин, гидроксимочевину, аспарагиназу, кортикостероиды, митоган (O,P'-(DDD)), интерфероны и смеси указанных цитотоксических агентов.

Дополнительные цитотоксические агенты включают такие химиотерапевтические агенты как карбоплатин, цисплатин, паклитаксел, гемцитабин, калихеамицин, доксорубин, 5-фторурацил, митомицин С, актиномицин D, циклофосфамид, винкристин и блеомицин, но не ограничиваются ими. Токсичные ферменты растений и бактерий, например ризин, дифтерийный токсин и токсин *Pseudomonas*, можно конъюгировать с гуманизованными или химерными антителами или их связывающими фрагментами с целью получения реагентов для уничтожения клеток определенного типа (Youle, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:5483 (1980); Gilliland, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:4539 (1980); Krolick, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:5419 (1980)).

Другие цитотоксические агенты включают цитотоксические рибонуклеазы, как описано Goldenberg в патенте США № 6653104. Варианты воплощения настоящего изобретения также относятся к радиоиммуноконъюгатам, где радионуклид, излучающий альфа- или бета-частицы, стабильно присоединен к антителу или его связывающим фрагментам, с использованием или без использования комплексообразователя. Такие радионуклиды включают бета-излучающие агенты, например фосфор-32 ( $^{32}\text{P}$ ), скандий-47 ( $^{47}\text{Sc}$ ), медь-67 ( $^{67}\text{Cu}$ ), галлий-67 ( $^{67}\text{Ga}$ ), иттрий-88 ( $^{88}\text{Y}$ ), иттрий-90 ( $^{90}\text{Y}$ ), иод-125 ( $^{125}\text{I}$ ), иод-131 ( $^{131}\text{I}$ ), самарий-153 ( $^{153}\text{Sm}$ ), лютеций-177 ( $^{177}\text{Lu}$ ), рений-186 ( $^{186}\text{Re}$ ) или рений-188 ( $^{188}\text{Re}$ ), и альфа-излучающие агенты, например астат-211 ( $^{211}\text{At}$ ), свинец-212 ( $^{212}\text{Pb}$ ), висмут-212 ( $^{212}\text{Bi}$ ) или -213 ( $^{213}\text{Bi}$ ) или актиний-225 ( $^{225}\text{Ac}$ ).

В данной области техники известны способы конъюгирования антитела или его связывающего фрагмента с обнаруживаемой группой и т.п., например способы, описанные в Hunter et al., Nature 144:945 (1962); David et al., Biochemistry 13:1014 (1974); Pain et al., J. Immunol. Meth. 40:219 (1981) и Nygren, J., Histochem and Cytochem. 30:407 (1982).

Варианты воплощения, описанные здесь, также включают варианты и эквиваленты, практически гомологичные антителам, фрагментам антител, диателам, SMTP, камелизированным антителам, нанотелам, IgNAR, полипептидам, вариабельным областям и CDR, описанным здесь. Указанные варианты могут содержать, например, мутации консервативной замены (т.е. замены одной или более аминокислот на аналогичные аминокислоты). Например, консервативная замена относится к замене аминокислоты на другую аминокислоту, принадлежащую к тому же общему классу, например одной кислой аминокислоты на другую кислотную аминокислоту, одной основной аминокислоты на другую основную аминокислоту или одной нейтральной аминокислоты на другую нейтральную аминокислоту. Консервативные аминокислотные замены хорошо известны в данной области техники.

В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение рассматривает полипептидные последовательности, обладающие по меньшей мере 90% или большей гомологией последовательности с любой одной или более из полипептидных последовательностей фрагментов антител, вариабельных областей и CDR, представленных здесь. Более предпочтительно настоящее изобретение рассматривает полипептидные последовательности, обладающие по меньшей мере 95% или большей гомологией последовательности, еще более предпочтительно по меньшей мере 98% или большей гомологией последовательности, а еще более предпочтительно по меньшей мере 99% или большей гомологией последовательности с любой одной или более из полипептидных последовательностей фрагментов антител, вариабельных областей и CDR, представленных здесь. Способы определения гомологии между нуклеотидными и аминокислотными последовательностями хорошо известны специалистам в данной области техники.

В другом варианте воплощения настоящее изобретение дополнительно рассматривает вышеописанные полипептидные гомологи фрагментов антител, вариабельных областей и CDR, представленные здесь и дополнительно обладающие активностью против CGRP. Неограничивающие примеры активности против CGRP приведены здесь, например, в абзацах ниже.

В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение дополнительно рассматривает получение и применение антиидиотипических антител, связывающих любую из вышеуказанных последовательностей. В типичном варианте воплощения такое антиидиотипическое антитело можно ввести субъекту, получавшему антитело против CGRP, для регуляции, снижения или нейтрализации действия антитела против CGRP. Такие антиидиотипические антитела также можно применять для лечения аутоиммунного заболевания, характеризующегося наличием антител против CGRP. Другим примером применения таких антиидиотипических антител является обнаружение антител против CGRP по настоящему

изобретению, например, для мониторинга уровней антител против CGRP, присутствующих в крови или других биологических жидкостях субъекта. Настоящее изобретение также рассматривает антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие любую из полипептидных или полинуклеотидных последовательностей, описанных здесь, замещенную на любую из других полинуклеотидных последовательностей, описанных здесь. Например, но не ограничиваясь этим, настоящее изобретение рассматривает антитела, включающие комбинацию любой из последовательностей варибельной области легкой цепи и варибельной области тяжелой цепи, описанных здесь, и дополнительно рассматривает антитела, полученные в результате замещения любой из последовательностей CDR, описанных здесь, любой другой из последовательностей CDR, описанных здесь.

Дополнительные типичные варианты воплощения настоящего изобретения.

В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение рассматривает одно или более антител против CGRP человека или фрагменты указанных антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, специфически связывающиеся с тем(и) же или перекрывающимся(ися) линейным(и) или конформационным(и) эпитопом(ами) и/или конкурирующие за связывание с тем(и) же или перекрывающимся(ися) линейным(и) или конформационным(и) эпитопом(ами) интактного полипептида CGRP человека или его фрагмента, что и антитело против CGRP человека, выбранное из Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab12, Ab13 или Ab14. В предпочтительном варианте воплощения антитело против CGRP человека или его фрагмент специфически связывается с тем(и) же или перекрывающимся(ися) линейным(и) или конформационным(и) эпитопом(ами) и/или конкурирует за связывание с тем(и) же или перекрывающимся(ися) линейным(и) или конформационным(и) эпитопом(ами) интактного полипептида CGRP человека или его фрагмента, что и Ab3, Ab6, Ab13 или Ab14, а наиболее предпочтительно - Ab3. Предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения направлен на химерные или гуманизированные антитела и их фрагменты (в том числе Fab-фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP и ингибирующие биологическую активность, опосредованную связыванием CGRP с рецептором CGRP, в особенности для лечения или профилактики светобоязни. В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерные или гуманизированные антитела против CGRP выбраны из Ab3, Ab6, Ab13 или Ab14 или более предпочтительно - Ab3. Еще один предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения относится к способам оценки подходящей терапевтической дозы или режима приема кандидата-антитела или фрагмента антитела против CGRP в организме человека на основе результатов, полученных на животной модели CGRP у грызунов.

Другие предпочтительные варианты воплощения настоящего изобретения направлены на терапевтическое применение специфических антител и их фрагментов для лечения или профилактики светобоязни, обладающих специфичностью связывания с CGRP, в частности антител, обладающих желательной эпитопной специфичностью, высоким сродством или авидностью и/или функциональными свойствами. В предпочтительных вариантах воплощения настоящее изобретение относится к анализам и применению антител, описанных здесь, включающих последовательности  $V_H$ ,  $V_L$  и CDR-полипептидов, описанные здесь, и полинуклеотиды, кодирующие их. Предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения направлен на химерные или гуманизированные антитела и их фрагменты (в том числе Fab-фрагменты), способные связываться с CGRP и/или ингибирующие биологическую активность, опосредованную связыванием CGRP с рецептором CGRP ("CGRP-R").

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения рассматривается способ снижения, лечения или профилактики заболеваний или нарушений, ассоциированных с CGRP, путем воздействия на указанную биологическую активность, опосредованную CGRP, в особенности ингибирования или предотвращения светобоязни, тем самым избегая нежелательной биологической активности, опосредованной связыванием CGRP с CGRP-R. В одном варианте воплощения заболевание или расстройство, связанное со светобоязнью, является мигренью, головной болью, болью или другими вышеупомянутыми состояниями, связанными со светобоязнью. Здесь представлен дополнительный нелимитирующий список заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP.

Еще один предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает применение последовательностей Fab-полипептидов для лечения мигрени и головных болей, в особенности для лечения или профилактики светобоязни у пациента. Неограничивающие типы мигрени и головных болей, которые можно лечить с помощью последовательностей Fab-полипептидов, приведены в настоящем раскрытии. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитело против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни является антителом, специфически связывающимся с теми же перекрывающимися линейными или конформационными эпитопами интактного полипептида CGRP или его фрагмента, который(е) специфически связывается(ются) с Ab3, Ab6, Ab13 или Ab14, согласно картированию эпитопов с использованием перекрывающихся линейных пептидных фрагментов, охватывающих всю длину нативного полипептида CGRP человека. Настоящее изобретение также направлено на антитело против CGRP для лечения или профилактики светобоязни, связывающееся с тем же эпитопом CGRP и/или конкурирующее за связывание с CGRP с антителом против CGRP, что и антитело или фрагмент антитела, раскрытые здесь, включая антитело против CGRP, выбранное из Ab1, Ab2,

Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab12, Ab13 или Ab14, предпочтительно Ab6, Ab10, Ab12 или Ab3, но не ограничиваясь им. Как упоминалось, распространенные причины светобоязни включают головные боли при мигрени, катаракту или тяжелые офтальмологические заболевания, например увеит или истирание роговицы. Расширенный список расстройств, связанных со светобоязнью, включает офтальмологические причины, например ахроматопсию, аниридию, антихолинергические препараты, способные вызывать светобоязнь, парализуя сфинктер радужной оболочки, афакию (отсутствие хрусталика глаза), буфтальм (аномально узкий угол между роговицей и радужной оболочкой), катаракту, колбочковую дегенерацию, врожденные аномалии глаза, вирусный конъюнктивит (острый эпидемический конъюнктивит), истирание роговицы, дистрофию роговицы, язву роговицы, расстройство эпителия роговицы, например, вызванное инородным телом роговицы или кератитом, эктопию хрусталика, эндофтальмит, травму глаз, вызванную заболеванием, повреждением или инфекцией, например халазионом, эписклеритом, глаукомой, кератоконусом или гипоплазией зрительного нерва, гидрофтальм или врожденную глаукому, ирит, неврит зрительного нерва, синдром диспергирования пигмента, расширение зрачков (естественное или химически индуцированное), отслоение сетчатки, рубцы роговицы или склеры и увеит. Кроме того, причины светобоязни могут быть связаны с нервной или мочевыделительной системой, включая: расстройства аутистического спектра, порок Киари, дислексию, энцефалит, включая миалгический энцефаломиелит или синдром хронической усталости, менингит, субарахноидальное кровоизлияние, опухоль задней черепной ямки, а также другие причины, например анкилозирующий спондилит, альбинизм, арибофлавиноз, бензодиазепины (длительное применение или отмену бензодиазепинов), химиотерапию, лихорадку чикунгунья, цистиноз, синдром Элерса-Данло, похмелье, грипп, инфекционный мононуклеоз, дефицит магния, отравление ртутью, мигрень, бешенство и тирозинемия II типа, также известную как "синдром Рихнера-Ханхарта". Кроме того, известно, что светобоязнь повышена при депрессии, биполярном расстройстве и агорафобии.

В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение также направлено на выделенное анти тело или фрагмент антитела против CGRP для лечения или профилактики светобоязни, включающее один или более из CDR, содержащихся в последовательностях  $V_H$ -полипептида, выбранных из 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103, 113, 123 или 133, или их варианта, и/или одного или более из CDR, содержащихся в последовательностях  $V_L$ -полипептида, выбранных из 1, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121, или 131, или их варианта.

В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитело против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни, обсуждаемое в двух предыдущих абзацах, включает по меньшей мере 2 области, определяющие комплементарность (CDR) в каждой вариабельной области легкой и тяжелой цепей, идентичные областям, содержащимся в антителе против CGRP человека, выбранном из Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab12, Ab13 или Ab14. В предпочтительном варианте воплощения антитело против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни, обсуждаемое выше, включает по меньшей мере 2 области, определяющие комплементарность (CDR) в каждой вариабельной области легкой и тяжелой цепей, идентичные областям, содержащимся в Ab3 или Ab6. В еще одном варианте воплощения все CDR антитела против CGRP человека, обсуждаемого выше, идентичны CDR, содержащимся в антителе против CGRP человека, выбранном из Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab12, Ab13 или Ab14. В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения все CDR антитела против CGRP человека, обсуждаемого выше, идентичны CDR, содержащимся в антителе против CGRP человека, выбранном из Ab3, Ab10, Ab12 или Ab6.

Настоящее изобретение также предусматривает, что одно или более из антител против CGRP человека, обсуждаемых выше для лечения или профилактики светобоязни, агликозилированы либо минимально гликозилированы, т.е. не содержат N-гликозилированных остатков, и включают некоторые O-гликозилированные остатки, например 1 или более остатков маннозы; например, антитела содержат Fc-область, модифицированную с целью изменения эффекторной функции, времени полужизни, протеолиза и/или гликозилирования; являются антителами человека, гуманизированными, одноцепочечными или химерными антителами; и являются гуманизированным антителом, происходящим от антитела кролика (исходного антитела) против CGRP человека. Кроме того, изобретение рассматривает одно или более антител против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни, где каркасные области (FR) в вариабельных областях легких и тяжелых цепей указанного антитела соответственно являются FR человека, немодифицированными или модифицированными путем замены одного или более остатков FR человека в вариабельных областях легких или тяжелых цепей соответствующими остатками FR исходного антитела кролика, и где указанные FR человека происходят от последовательностей вариабельных областей легких и тяжелых цепей антитела человека, выбранных из библиотеки последовательностей антител эмбрионального типа человека на основании высокого уровня их гомологии с соответствующими вариабельными областями легких или тяжелых цепей кролика по сравнению с другими последовательностями антител эмбрионального типа человека, содержащимися в библиотеке.

В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитело или фрагмент против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни специфически связывается с CGRP-экспрессирующими клетками человека и/или циркулирующими растворимыми молекулами CGRP *in vivo*, включая CGRP,

экспрессированный на клетках или клетками человека при заболевании, ассоциированном с клетками, экспрессирующими CGRP.

В еще одном варианте воплощения указанное заболевание выбрано из светобоязни или отвращения к свету, связанных с одним или более из мигрени (с аурой или без нее), менструальной головной боли, менструальной мигрени, менопаузальной мигрени или другой гормонально опосредованной мигрени, гемиплегической мигрени, кластерных головных болей, мигренозной невралгии, хронических головных болей, головных болей напряжения, общей головной боли, мигрени, ассоциированной с "приливами", хронической пароксизмальной гемикрании, вторичных головных болей вследствие основной структурной проблемы в области головы или шеи, черепной невралгии, синусных головных болей (например, связанных с синуситом), головных болей или мигрени, вызванных аллергией, мигрени без головных болей и мигрени с тошнотой и рвотой.

Настоящее изобретение также рассматривает одну или более из нуклеотидных последовательностей, приводящих к экспрессии антитела или фрагмента антитела против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни, как представлено выше, в том числе последовательностей, содержащих или, в качестве альтернативы, состоящих из предпочтительных кодонов дрожжей или человека. Настоящее изобретение также рассматривает векторы (в том числе плазмидные или рекомбинантные вирусные векторы), включающие указанную(ые) нуклеотидную(ые) последовательность(и). Настоящее изобретение также рассматривает клетки-хозяева или рекомбинантные клетки-хозяева, экспрессирующие по меньшей мере одно из антител, представленных выше, в том числе клетки млекопитающих, дрожжей, бактерий и насекомых. В предпочтительном варианте воплощения клетка-хозяин является дрожжевой клеткой. В другом предпочтительном варианте воплощения указанная дрожжевая клетка является диплоидной дрожжевой клеткой. В более предпочтительном варианте воплощения указанная дрожжевая клетка является клеткой дрожжей *Pichia*. Настоящее изобретение также рассматривает способ лечения, включающий введение пациенту с заболеванием или состоянием, связанным с клетками, экспрессирующими CGRP, терапевтически эффективного количества по меньшей мере одного антитела или его фрагмента против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни, описанного здесь. Настоящее изобретение также предусматривает, что указанный способ лечения может включать введение двух или более антител против CGRP или их фрагментов, раскрытых здесь. Если пациенту вводят более одного антитела, указанные множественные антитела можно вводить одновременно или согласованно, или со сдвигом по отношению друг к другу. Заболевания, которые можно лечить, представлены в неограничивающем списке, изложенном выше и в других разделах настоящего документа. В предпочтительном варианте воплощения указанное заболевание, связанное со светобоязнью, выбрано из мигрени, головной боли, боли, диареи, раковой боли или невропатической боли. В еще одном варианте воплощения лечение дополнительно включает введение другого терапевтического агента или схемы лечения, выбранной из химиотерапии, лучевой терапии, введения цитокинов или генной терапии. В неограничивающем варианте воплощения настоящего изобретения другой терапевтический агент или схема лечения включает опиоиды, анальгетики, например НПВП, таксол (таклитаксел) или его производные, соединения платины, например карбоплатин или цисплатин, антрациклины, например доксорубин, алкилирующие агенты, например циклофосфамид, антимаетаболиты, например 5-фторурацил или этопозид.

Настоящее изобретение также рассматривает способ визуализации *in vivo*, обнаруживающий присутствие клеток, экспрессирующих CGRP, включающий введение диагностически эффективного количества по меньшей мере одного антитела против CGRP человека. В одном варианте воплощения указанное введение дополнительно включает введение радионуклида или флуорофора, что облегчает обнаружение антитела в очагах заболевания, экспрессирующих CGRP. В дополнительном варианте воплощения результаты указанного способа визуализации *in vivo* используют для облегчения составления соответствующей схемы лечения, в том числе схем лечения, включающих лучевую терапию, химиотерапию или их комбинацию.

Антагонистическую по отношению к CGRP активность антител против CGRP по настоящему изобретению и их фрагментов для лечения или профилактики светобоязни, обладающих специфичностью связывания с CGRP, можно также описать по их силе связывания или их средству к CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP по настоящему изобретению и их фрагменты, обладающие специфичностью связывания с CGRP, связываются с CGRP с константой диссоциации (KD), меньшей или равной  $5 \times 10^{-7}$  M,  $10^{-7}$  M,  $5 \times 10^{-8}$  M,  $10^{-8}$  M,  $5 \times 10^{-9}$  M,  $10^{-9}$  M,  $5 \times 10^{-10}$  M,  $10^{-10}$  M,  $5 \times 10^{-11}$  M,  $10^{-11}$  M,  $5 \times 10^{-12}$  M,  $10^{-12}$  M,  $5 \times 10^{-13}$  M или  $10^{-13}$  M. Предпочтительно антитела против CGRP и их фрагменты связывают CGRP с константой диссоциации, меньшей или равной  $10^{-11}$  M,  $5 \times 10^{-12}$  M или  $10^{-12}$  M. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP по настоящему изобретению и их фрагменты, обладающие специфичностью связывания с CGRP, связываются с линейным или конформационным эпитопом CGRP.

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антагонистическая по отношению к CGRP активность антител против CGRP по настоящему изобретению и их фрагментов, обладающих специфичностью связывания с CGRP, характеризуется связыванием с CGRP со скоростью диссоциации,

меньшей или равной  $10^{-4} \text{ c}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ ,  $10^{-5} \text{ c}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-6} \text{ c}^{-1}$ ,  $10^{-6} \text{ c}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-7} \text{ c}^{-1}$  или  $10^{-7} \text{ c}^{-1}$ . В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения антагонистическая по отношению к CGRP активность антител против CGRP по настоящему изобретению и их фрагментов, обладающих специфичностью связывания с CGRP, характеризуется проявлением активности против CGRP путем предотвращения, облегчения или снижения симптомов или, в качестве альтернативы, лечения заболеваний или расстройств, ассоциированных с CGRP, в особенности для лечения или профилактики светобоязни. Здесь представлены неограничивающие примеры заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP, и состояний, ассоциированных со светобоязнью.

Полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител против CGRP.

Антитело Ab1.

Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 1:

CAAGTGTGACCCAGACTGCATCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC  
ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCC  
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT  
CTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCT  
CTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT  
TATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGTC  
AAACGT (SEQ ID NO: 141).

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 2:

CAAGTGTGACCCAGACTGCATCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC  
ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCC  
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT  
CTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCT  
CTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT  
TATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGTC  
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG  
AAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC  
AAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT  
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGA  
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAACCCATCAGGGC  
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:  
142).

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3:

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGTTCGCTGGTCACGCCTGGGACACCC  
CTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGACTCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGG  
GTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTAATGA  
TAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGCCTCGT  
CGACCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACSTAT  
TTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCAGGCACCTCGTCACCGTCTCGAGC  
(SEQ ID NO: 143).

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 4:

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGTTCGCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACT  
CACCTGCACAGTCTCTGGACTCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGCCA  
GGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTAATGATAACACAT

ACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGCCTCGTCGACCACG  
 GTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCC  
 AGAGGGGACATCTGGGGCCAGGCACCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAA  
 GGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC  
 GGCCCTGGGTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGA  
 ACTCAGGCGCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAG  
 GACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGA  
 CCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT  
 GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTC  
 CTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATC  
 TCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA  
 GGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC  
 CGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTG  
 CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAGCCCT  
 CCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC  
 AGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG  
 ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA  
 TGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT  
 CCTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC  
 GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC  
 CTCTCCCTGTCTCCGGTAAATGA (SEQ ID NO: 144).

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 145; SEQ ID NO: 146 и SEQ ID NO: 147, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 1 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 2.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 148; SEQ ID NO: 149 и SEQ ID NO: 150, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 4.

Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 141, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 1; полинуклеотида SEQ ID NO: 142, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 2; полинуклеотида SEQ ID NO: 143, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3; полинуклеотида SEQ ID NO: 144, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 4; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 145; SEQ ID NO: 146 и SEQ ID NO: 147) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 1 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 2; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 148; SEQ ID NO: 149 и SEQ ID NO: 150) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 4.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab1, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab1, включают или, в альтернативном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 142, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 2, и полинуклеотида SEQ ID NO: 144, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 4.

Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках

CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей, например дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab1 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab1, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab1 в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab2.

Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11:

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC  
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTATGATAACAACCTACCTAGCC  
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT  
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT  
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGT  
TATGATTGTAGTAGTGGTATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATC  
AAACGT (SEQ ID NO: 151).

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 12:

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC  
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTATGATAACAACCTACCTAGCC  
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT  
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT  
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGT  
TATGATTGTAGTAGTGGTATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATC  
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG  
AAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC  
AAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT  
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGA  
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTACCCATCAGGGC  
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:  
152).

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG  
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGACTCGACCTCAGTAGCTACTACATGCA  
ATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTATCA  
ATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGGCAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC  
AATTCCAAGACCAGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC  
TGTGATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCAAAGGGACCCCTCGTCACCGTCTC  
GAGC (SEQ ID NO: 153).

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 14:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG  
 ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGACTCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCG  
 TCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTATCAATGATAACA  
 CATACTACCGGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG  
 ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCT  
 TGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC  
 CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG  
 CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCT  
 GTGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTC  
 CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCAC  
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA  
 GAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTCCCAGCACCTG  
 AACTCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCA  
 TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC  
 CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC  
 AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCG  
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAA  
 GCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA  
 ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA  
 GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG  
 AGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGA  
 CGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG  
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA  
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO: 154).

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 155; SEQ ID NO: 156 и SEQ ID NO: 157, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 12.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 158; SEQ ID NO: 159 и SEQ ID NO: 160, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 14.

Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 151, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11; полинуклеотида SEQ ID NO: 152, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13; полинуклеотида SEQ ID NO: 154, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 14; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 155; SEQ ID NO: 156 и SEQ ID NO: 157) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 12; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 158; SEQ ID NO: 159 и SEQ ID NO: 160) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 14.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab2, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab2, включают или, в альтернативном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 152, кодирующего последовательность легкой

цепи SEQ ID NO: 12, и полинуклеотида SEQ ID NO: 154, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 14.

Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей, например дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab2 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab2, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab2 в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab3.

Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 21:

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC  
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCC  
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT  
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT  
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGT  
TATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAATC  
AAACGT (SEQ ID NO: 161).

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 22:

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC  
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCC  
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT  
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT  
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGT  
TATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAATC  
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG  
AAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC  
AAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT  
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGA  
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC  
CTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:  
162).

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG  
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGACTCGACCTCAGTAGCTACTACATGCA  
ATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTATCA  
ATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC  
AATTCCAAGACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC  
TGTGATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTC  
GAGC (SEQ ID NO: 163).

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 24:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG  
 ACTCTCTGTGCAGTCTCTGGACTCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCG  
 TCAGGCTCCAGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTATCAATGATAACA  
 CATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG  
 ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTT  
 TGTGCTAGAGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC  
 CACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG  
 CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG  
 GTGGAACCTAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTC  
 CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCAC  
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGA  
 GAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG  
 AACTCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCTCA  
 TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC  
 CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC  
 AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCG  
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAA  
 GCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA  
 ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA  
 GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG  
 AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACATAAGACCACGCTCCCGTGGTGGACTCCGA  
 CGGCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG  
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGAGA  
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO: 164).

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 165; SEQ ID NO: 166 и SEQ ID NO: 167, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 21 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 22.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 168; SEQ ID NO: 169 и SEQ ID NO: 170, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 24.

Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 161, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 21; полинуклеотида SEQ ID NO: 162, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 22; полинуклеотида SEQ ID NO: 163, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23; полинуклеотида SEQ ID NO: 164, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 24; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 165; SEQ ID NO: 166 и SEQ ID NO: 167) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 21 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 22; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 168; SEQ ID NO: 169 и SEQ ID NO: 170) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 24.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab3, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab3, включают или, в альтернативном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 162, кодирующего последовательность легкой

цепи SEQ ID NO: 22, и полинуклеотида SEQ ID NO: 164, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 24.

Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей, например дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab3 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для лечения или профилактики светобоязни, например Ab3, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab3 в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab4.

Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31:

```
CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAACAAGTATCTATGATGCATCCAC
TCTGGCGTCTGGGGTCCCATCGCGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCAC
TCTCACCATCAGCGGCGTGCAGTGTAACGATGCTGCCGCTTACTACTGTCTGGGCAG
TTATGATTGTAATAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGT
CAAACGT (SEQ ID NO: 171).
```

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 32:

```
CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAACAAGTATCTATGATGCATCCAC
TCTGGCGTCTGGGGTCCCATCGCGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCAC
TCTCACCATCAGCGGCGTGCAGTGTAACGATGCTGCCGCTTACTACTGTCTGGGCAG
TTATGATTGTAATAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGT
CAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT
GAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGC
CAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTG
TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTG
AGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGG
CCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
172).
```

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 33:

```
CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGTCCGCTGGTACGCCTGGGACACCC
CTGACACTCACCTGTTCCGCTCTGGCATCGACCTCAGTGGCTACTACATGAAGTGG
GTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTAATGG
TGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTC
GACCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATT
TCTGTGCCAGAGGGACATCTGGGGCCCGGGCACCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ
ID NO: 173).
```

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают

или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 34:

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACT  
CACSTGTTCCGTCTCTGGCATCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCGCCA  
GGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTAATGGTGCCACAT  
ACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACG  
GTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCC  
AGAGGGGACATCTGGGGCCCGGGCACCCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAA  
GGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC  
GGCCCTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGA  
ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCGGCTGTCTACAGTCCTCAG  
GACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGA  
CCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT  
GAGCCCAAATCTTGTGACAAAATCACAATGCCCACCGTGCCAGCACCTGAACTC  
CTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCCTCATGATC  
TCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA  
GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAAGC  
CGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTACGCTCCTCACCGTCCTG  
CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAAGCCCT  
CCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC  
AGGTGTACACCCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG  
ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA  
TGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT  
CCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC  
GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC  
CTCTCCCTGTCTCCGGTAAATGA (SEQ ID NO: 174).

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 175; SEQ ID NO: 176 и SEQ ID NO: 177, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 32.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 178; SEQ ID NO: 179 и SEQ ID NO: 180, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 33 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 34. Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 171, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31; полинуклеотида SEQ ID NO: 172, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 32; полинуклеотида SEQ ID NO: 173, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 33; полинуклеотида SEQ ID NO: 174, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 34; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 175; SEQ ID NO: 176 и SEQ ID NO: 177) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 32; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 178; SEQ ID NO: 179 и SEQ ID NO: 180) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 33 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 34.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к

антителу Ab4, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab4, включают или, в альтернативном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 172, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 32, и полинуклеотида SEQ ID NO: 174, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 34.

Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей, например дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab4 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab4, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab4 в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab5.

Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 41:

```
CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTATCATAACACCTACCTGGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGCATCCAC
TCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTAC
TCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTAAGTCTGGGCGAG
TTATGATTGTAATAATGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAT
CAAACGT (SEQ ID NO: 181).
```

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 42:

```
CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTATCATAACACCTACCTGGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGCATCCAC
TCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTAC
TCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTAAGTCTGGGCGAG
TTATGATTGTAATAATGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAT
CAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT
GAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGC
CAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTG
TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTG
AGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGG
CCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 182).
```

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43:

```
GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACCTCAGTGGCTACTACATGAA
CTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTATTA
ATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC
AATCCAAGACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC
TGTGATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTC
GAGC (SEQ ID NO: 183).
```

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей

шей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 44:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG  
 ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCG  
 TCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTATTAATGGTGCCA  
 CATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG  
 ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCT  
 TGTGCTAGAGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTACCGTCTCGAGCGCCTC  
 CACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG  
 CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG  
 GTGGAACCTCAGGCGCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTCCCCGGTGTCTACAGTC  
 CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCAC  
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA  
 GAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTG  
 AACTCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCCAAGGACACCCTCA  
 TGATCTCCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC  
 CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC  
 AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAGGCTCTCCAACAA  
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAACAAA  
 GCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA  
 ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA  
 GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG  
 AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGA  
 CGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG  
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA  
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO: 184).

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 185; SEQ ID NO: 186; и SEQ ID NO: 187, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 41 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 42.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 188; SEQ ID NO: 189 и SEQ ID NO: 190, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 44.

Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 181, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 41; полинуклеотида SEQ ID NO: 182, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43; полинуклеотида SEQ ID NO: 184, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 44; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 185; SEQ ID NO: 186 и SEQ ID NO: 187) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 41 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 42; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 188; SEQ ID NO: 189 и SEQ ID NO: 190) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 44.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab5, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab5, включают или, в альтерна-

тивном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 182, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 42, и полинуклеотида SEQ ID NO: 184, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 44.

Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей, например дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab5 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab5, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab5 в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab6.

Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 51:

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC  
AGAGTACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTCATATAACACCTACCTGGCC  
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGCATCCAC  
TCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCAC  
TCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTAAGTCTGGGCAG  
TTATGATTGTAATAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAAT  
CAAACGT (SEQ ID NO: 191).

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 52:

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC  
AGAGTACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTCATATAACACCTACCTGGCC  
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGCATCCAC  
TCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCAC  
TCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTAAGTCTGGGCAG  
TTATGATTGTAATAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAAT  
CAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT  
GAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGC  
CAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTG  
TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTG  
AGCAAAGCAGACTACGAGAAACAAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGG  
CCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:  
192).

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG  
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACCTCAGTGGCTACTACATGAA  
CTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTATTA  
ATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCCATCTCCAGAGAC  
AATCCAAGACCACGGTGTATCTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC  
TGTGATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCAAGGGACCCTCGTACCCGTCTC  
GAGC (SEQ ID NO: 193).

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей

шей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 54:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG  
 ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCG  
 TCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTATTAATGGTGCCA  
 CATACTACCGGAGCTGGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG  
 ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTT  
 TGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC  
 CACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG  
 CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG  
 GTGGAACCTAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTC  
 CTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCAC  
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGA  
 GAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTG  
 AACTCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCCTCA  
 TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC  
 CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC  
 AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCG  
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAACAAA  
 GCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA  
 ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA  
 GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG  
 AGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGA  
 CGGCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG  
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA  
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO: 194).

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полину клеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 195; SEQ ID NO: 196 и SEQ ID NO: 197, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 51 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 52.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 198; SEQ ID NO: 199 и SEQ ID NO: 200, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 54.

Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 191, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 51; полину клеотида SEQ ID NO: 192, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53; полинуклеотида SEQ ID NO: 193, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 54; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 195; SEQ ID NO: 196 и SEQ ID NO: 197) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 51 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 52; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 198; SEQ ID NO: 199 и SEQ ID NO: 200) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 54.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab6, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab6, включают или, в альтерна-

тивном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 192, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 52, и полинуклеотида SEQ ID NO: 194, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 54. Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab6 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab6, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab6 в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

#### Антитело Ab7.

Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61:

```
CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATAATTACAACCTTGGC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAAAGGCAGTGATCTGGGACACAGTTCAC
CTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT
TATGACTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGT (SEQ ID NO: 201).
```

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 62:

```
CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATAATTACAACCTTGGC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAAAGGCAGTGATCTGGGACACAGTTCAC
CTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT
TATGACTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
AAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
AAAGTACAGTGGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAGTCCCAGGAGAGTGT
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
202).
```

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63:

```
CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGTCCGCTGGTCCAGCCTGGGAC
ATCCCTGACACTCACCTGCACCGTCTTGGAAATCGACCTCAGTAACCACTACATGCA
ATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGAGTCGTTGGTATTA
ATGGTCGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAACC
TCGTGACACCGGTGGATCTGAAAATGACCAGGCTGACAACCGAGGACACGGCCAC
STATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTCGAG
C (SEQ ID NO: 203).
```

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей

шей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 64:

CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGTTCGCCTGGTCACGCCTGGGACATCCCTGAC  
 ACTCACCTGCACCGTCTCTGGAATCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGGTCCG  
 CCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGATCGGAGTCGTTGGTATTAATGGTCGCA  
 CATACTACCGGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAACCTCGTCGACC  
 ACGGTGGATCTGAAAATGACCAGGCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTG  
 TGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCA  
 CCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCA  
 CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG  
 GAACTCAGGCGCCTGACCAGCGGCTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCTT  
 CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCC  
 AGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA  
 GTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAA  
 CTCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATG  
 ATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC  
 TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA  
 AGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTACGCTCCTCACCGTC  
 CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGC  
 CCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC  
 CACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACG  
 CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG  
 CAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACG  
 GCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG  
 AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAG  
 AGCCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATGA (SEQ ID NO: 204).

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 205; SEQ ID NO: 206 и SEQ ID NO: 207, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 62.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 208; SEQ ID NO: 209 и SEQ ID NO: 210, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 64.

Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 201, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61; полинуклеотида SEQ ID NO: 202, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 62; полинуклеотида SEQ ID NO: 203, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63; полинуклеотида SEQ ID NO: 204, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 64; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 205; SEQ ID NO: 206 и SEQ ID NO: 207) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 62; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 208; SEQ ID NO: 209 и SEQ ID NO: 210) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 64.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab7, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab7, включают или, в альтерна-

тивном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 202, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 62, и полинуклеотида SEQ ID NO: 204, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 64.

Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab7 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab7, или их Fab'-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab7 в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab8.

Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71:

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC  
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTACAATTACAACCTACCTTGCC  
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT  
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT  
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGT  
TATGATTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAATC  
AAACGT (SEQ ID NO: 211).

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 72:

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC  
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTACAATTACAACCTACCTTGCC  
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT  
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT  
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGT  
TATGATTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAATC  
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG  
AAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC  
AAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT  
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGA  
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC  
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:  
212).

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG  
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACCTCAGTAACCACTACATGCA  
ATGGGTCCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCGTTGGTATCA  
ATGGTCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC  
AATTCCAAGACCAGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC  
TGTGATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTC  
GAGC (SEQ ID NO: 213).

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают

или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 74:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG  
 ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGGTCCG  
 TCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGCGAGTCGTTGGTATCAATGGTTCGCA  
 CATACTACCGGAGCTGGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG  
 ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCT  
 GTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC  
 CACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG  
 CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG  
 GTGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTACAGTC  
 CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCAC  
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA  
 GAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTG  
 AACTCTGGGGGGACCGTCAAGTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCTCA  
 TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC  
 CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC  
 AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCG  
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAACAAA  
 GCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA  
 ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA  
 GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG  
 AGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGA  
 CGGCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG  
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA  
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO: 214).

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 215; SEQ ID NO: 216 и SEQ ID NO: 217, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 72.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 218; SEQ ID NO: 219 и SEQ ID NO: 220, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 74.

Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 211, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71; полинуклеотида SEQ ID NO: 212, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 72; полинуклеотида SEQ ID NO: 213, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73; полинуклеотида SEQ ID NO: 214, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 74; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 215; SEQ ID NO: 216 и SEQ ID NO: 217) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 72; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 218; SEQ ID NO: 219 и SEQ ID NO: 220) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 74.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к

антителу Ab8, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab8, включают или, в альтернативном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 212, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 72, и полинуклеотида SEQ ID NO: 214, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 74.

Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab8 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab8, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab8 в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab9.

Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81:

```
CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAATGTTTATAATAACAACACTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACGTCCACT
CTGGCATCTGGGGTCTCATCGGATTCAGAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCAC
TCCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT
TATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCCGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGT (SEQ ID NO: 221).
```

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 82:

```
CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAATGTTTATAATAACAACACTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACGTCCACT
CTGGCATCTGGGGTCTCATCGGATTCAGAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCAC
TCCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT
TATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCCGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
AAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
AAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
222).
```

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83:

```
CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGTGCCTGGTCACGCCTGGGACACCC
CTGACACTCACCTGCACAGTCTTGGAATCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAGTGG
GTCCGCCAGTCTCCAGGGAGGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTAGTGATGG
TAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAGACCTCGT
CGACCACGGTGGATCTGAGAATGGCCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTAT
TTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCCGGGACCTCGTCACCGTCTCGAGC
(SEQ ID NO: 223).
```

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают

или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 84:

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGTTCGCTGGTACGCTGGGACACCCCTGACACT  
 CACCTGCACAGTCTCTGGAATCGGCCCTCAGTAGCTACTACATGCAGTGGGTCCGCCA  
 GTCTCCAGGGAGGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTAGTGATGGTAAGACAT  
 ACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAAGACCTCGTCGACCACG  
 GTGGATCTGAGAATGGCCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTACC  
 AGAGGGGACATCTGGGGCCCGGGGACCCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAA  
 GGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC  
 GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGA  
 ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAG  
 GACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGA  
 CCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT  
 GAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCGTGCCAGCACCTGAACTC  
 CTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCCTCATGATC  
 TCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA  
 GGTCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAAGC  
 CGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTACGCGTCTCACCGTCTG  
 CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCT  
 CCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC  
 AGGTGTACACCCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG  
 ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA  
 TGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT  
 CCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC  
 GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC  
 CTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO: 224).

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 225; SEQ ID NO: 226 и SEQ ID NO: 227, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 82.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 228; SEQ ID NO: 229 и SEQ ID NO: 230, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 84.

Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 221, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81; полинуклеотида SEQ ID NO: 222, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 82; полинуклеотида SEQ ID NO: 223, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83; полинуклеотида SEQ ID NO: 224, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 84; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 225; SEQ ID NO: 226 и SEQ ID NO: 227) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 82; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 228; SEQ ID NO: 229 и SEQ ID NO: 230) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 84.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к

антителу Ab9, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab9, включают или, в альтернативном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 222, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 82, и полинуклеотида SEQ ID NO: 224, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 84.

Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab9 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab9, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab9 в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab10.

Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91:

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC  
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAATGTTTACAATAACAACCTACCTAGCC  
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT  
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT  
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGT  
TATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAATC  
AAACGT (SEQ ID NO: 231).

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 92:

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC  
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAATGTTTACAATAACAACCTACCTAGCC  
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT  
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT  
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGT  
TATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAATC  
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG  
AAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC  
AAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT  
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGA  
GCAAAGCAGACTACGAGAAACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAACCATCAGGGC  
CTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:  
232).

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG  
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCA  
ATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTAGTG  
ATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC  
AATTCCAAGACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC  
TGTGTATTTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTC  
GAGC (SEQ ID NO: 233).

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают

или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 94:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG  
 ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCG  
 TCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTAGTGATGGTAAGA  
 CATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG  
 ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTT  
 TGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCTCTGTACCGTCTCGAGCGCCTC  
 CACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG  
 CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG  
 GTGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTC  
 CTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCAC  
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA  
 GAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTG  
 AACTCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCTCA  
 TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC  
 CCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC  
 AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTACCG  
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAA  
 GCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA  
 ACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA  
 GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG  
 AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGA  
 CGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG  
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGAGA  
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 234).

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 235; SEQ ID NO: 236 и SEQ ID NO: 237, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 92.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 238; SEQ ID NO: 239 и SEQ ID NO: 240, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 94.

Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 231, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91; полинуклеотида SEQ ID NO: 232, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 92; полинуклеотида SEQ ID NO: 233, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93; полинуклеотида SEQ ID NO: 234, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 94; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 235; SEQ ID NO: 236 и SEQ ID NO: 237) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 92; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 238; SEQ ID NO: 239 и SEQ ID NO: 240) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 94.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к

антителу Ab10, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab10, включают или, в альтернативном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 232, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 92, и полинуклеотида SEQ ID NO: 234, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 94.

Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab10 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab10, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab10 в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab11.

Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 101:

```
CAGGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCGTGTCTCCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTTATTATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCT
CTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT
TATGATTGTAGTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGT (SEQ ID NO: 241).
```

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 102:

```
CAGGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCGTGTCTCCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTTATTATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCT
CTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT
TATGATTGTAGTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
AAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
AAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
242).
```

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103:

```
CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGTTCGCTGGTACGCCTGGAGGATCC
CTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCGACGTCACCTAATACTATATGCAATGG
GTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTGTGAATGG
TAAGAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGT
CGACCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTAT
TTCTGTGCCAGAGGCGACATCTGGGGCCCGGGACCCCTCGTACCCGTCTCGAGC
(SEQ ID NO: 243).
```

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают

или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 104:

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGTTCGCTGGTACGCCTGGAGGATCCCTGACACT  
CACCTGCACAGTCTCTGGAATCGACGTCACCTAACTACTATATGCAATGGGTCCGCCA  
GGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTGTGAATGGTAAGAGAT  
ACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACG  
GTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCC  
AGAGGGCGACATCTGGGGCCCGGGACCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAA  
GGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC  
GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGA  
ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAG  
GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGA  
CCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT  
GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTC  
CTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCCTCATGATC  
TCCCGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA  
GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC  
CGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTCTG  
CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGCCCT  
CCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC  
AGGTGTACACCTGCCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG  
ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA  
TGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT  
CCTTCTCTCTACAGCAAGTCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC  
GTCTTCTATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC  
CTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO: 244).

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 245; SEQ ID NO: 246 и SEQ ID NO: 247, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 101 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 102.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 248; SEQ ID NO: 249 и SEQ ID NO: 250, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 104.

Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 241, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 101; полинуклеотида SEQ ID NO: 242, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 102; полинуклеотида SEQ ID NO: 243, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103; полинуклеотида SEQ ID NO: 244, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 104; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 245; SEQ ID NO: 246 и SEQ ID NO: 247) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 101 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 102; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 248; SEQ ID NO: 249 и SEQ ID NO: 250) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 104.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к

антителу Ab11, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab11, включают или, в альтернативном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 242, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 102, и полинуклеотида SEQ ID NO: 244, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 104.

Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab11 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab11, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab11 в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab12.

Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111:

```
CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTACTATAACAACACTACSTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGT
TATGATTGTAGTAATGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATC
AAACGT (SEQ ID NO: 251).
```

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 112:

```
CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTACTATAACAACACTACSTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGT
TATGATTGTAGTAATGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATC
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
AAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
AAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
252).
```

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113:

```
GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACGTCACCTAACTACTACATGCA
ATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTGTGA
ATGGTAAGAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC
AATTCGAAGACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC
TGTGATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCCTCGTCACCGTCTC
GAGC (SEQ ID NO: 253).
```

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают

или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 114:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG  
 ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACGTCACCTAACTACTACATGCAATGGGTCCG  
 TCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTGTGAATGGTAAGA  
 GATACTACCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCGAAG  
 ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTT  
 TGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC  
 CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG  
 CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG  
 GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTC  
 CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC  
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA  
 GAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTG  
 AACTCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCCTCA  
 TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC  
 CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC  
 AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCG  
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAA  
 GCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA  
 ACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA  
 GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG  
 AGCAATGGGCAGCCGGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGA  
 CGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG  
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA  
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO: 254).

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 255; SEQ ID NO: 256 и SEQ ID NO: 257, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 112.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 258; SEQ ID NO: 259 и SEQ ID NO: 260, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 114.

Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 251, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111; полинуклеотида SEQ ID NO: 252, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 112; полинуклеотида SEQ ID NO: 253, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113; полинуклеотида SEQ ID NO: 254, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 114; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 255; SEQ ID NO: 256 и SEQ ID NO: 257) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 112; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 258; SEQ ID NO: 259 и SEQ ID NO: 260) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 114.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к

антителу Ab12, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab12, включают или, в альтернативном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 252, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 112, и полинуклеотида SEQ ID NO: 254, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 114.

Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab12 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab12, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab12 в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab13.

Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121:

```
GCCATCGTGATGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGA
GACACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTGAGAGTCTTTATAATAACAACGCCTTG
GCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCGCCTGATCTATGATGCATCC
AAACTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGTTTCAGTGGCGGTGGGTCTGGGACACAGTTC
ACTCTCACCATCAGTGGCGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTGGAGGC
TACAGAAGTGATAGTGTGATGGTGTGCTTTCGCCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGT (SEQ ID NO: 261).
```

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 122:

```
GCCATCGTGATGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGA
GACACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTGAGAGTCTTTATAATAACAACGCCTTG
GCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCGCCTGATCTATGATGCATCC
AAACTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGTTTCAGTGGCGGTGGGTCTGGGACACAGTTC
ACTCTCACCATCAGTGGCGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTGGAGGC
TACAGAAGTGATAGTGTGATGGTGTGCTTTCGCCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
AAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
AAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
262).
```

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123:

```
CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGAGGGATC
CCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTGACTTCAGTAGCAATGCAATGTGGTG
GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCATTTACAATGGTG
ATGGCAGCACATACTACGCGAGCTGGGTGAATGGCCGATTCTCCATCTCCAAAACCT
CGTCGACCACGGTGAAGTCTGCAACTGAATAGTCTGACAGTCCGCGACACGGCCACG
TATTATTGTGCGAGAGATCTTGAAGTGTGGGGCCCGGGCACCCCTCGTCACCGTCTCG
AGC (SEQ ID NO: 263).
```

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают

или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 124:

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGAGGGATCCCTGACACT  
CACCTGCACAGCCTCTGGATTCTGACTTCAGTAGCAATGCAATGTGGTGGGTCGCCA  
GGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCATTTACAATGGTGATGGCAGCA  
CATACTACGCGAGCTGGGTGAATGGCCGATTCTCCATCTCCAAAACCTCGTCGACCA  
CGGTGACTCTGCAACTGAATAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACGTATTATTGTG  
CGAGAGATCTTACTTGTGGGGCCCGGGCACCCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCA  
CCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCA  
CAGCGGCCCTGGGTGCCTGGTCAAGGACTACTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT  
GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTCCCGGCTGTCTACAGTCTCT  
CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCC  
AGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA  
GTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAA  
CTCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATG  
ATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC  
TGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA  
AGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTGTC  
CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGTCTCCAACAAAGC  
CCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC  
CACAGGTGTACACCCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACG  
CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG  
CAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGACTCCGACG  
GCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG  
AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAG  
AGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO: 264).

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 265; SEQ ID NO: 266 и SEQ ID NO: 267, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 122.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 268; SEQ ID NO: 269 и SEQ ID NO: 270, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 124.

Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 261, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121; полинуклеотида SEQ ID NO: 262, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 122; полинуклеотида SEQ ID NO: 263, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123; полинуклеотида SEQ ID NO: 264, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 124; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 265; SEQ ID NO: 266 и SEQ ID NO: 267) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 122; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 268; SEQ ID NO: 269 и SEQ ID NO: 270) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 124.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к

антителу Ab13, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab13, включают или, в альтернативном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 262, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 122, и полинуклеотида SEQ ID NO: 264, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 124.

Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab13 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab13, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab13 в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab14.

Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131:

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC  
AGAGTCCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAATGTTTACAATAACAACCTACCTAGCC  
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT  
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT  
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTAAGTGTCTGGGCAGT  
TATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTGTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAATC  
AAACGT (SEQ ID NO: 271).

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 132:

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC  
AGAGTCCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAATGTTTACAATAACAACCTACCTAGCC  
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT  
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT  
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTAAGTGTCTGGGCAGT  
TATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTGTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAATC  
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG  
AAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC  
AAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT  
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGA  
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC  
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:  
272).

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG  
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCA  
ATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTAGTG  
ATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC  
AATTCCAAGACCAGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC  
TGTGTATTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCAAGGGACCTCGTCACCGTCTC  
GAGC (SEQ ID NO: 273).

В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 134:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG  
 ACTCTCTGTGCAGTCTCTGGAATCGGCCCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCG  
 TCAGGCTCCAGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTAGTGATGGTAAGA  
 CATACTACCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG  
 ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTT  
 TGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC  
 CACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG  
 CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG  
 GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTACAGTC  
 CTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC  
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGA  
 GAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG  
 AACTCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCTCA  
 TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC  
 CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC  
 AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCG  
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAACAAA  
 GCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA  
 ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA  
 GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG  
 AGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGA  
 CGGCTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG  
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA  
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO: 274).

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 275; SEQ ID NO: 276 и SEQ ID NO: 277, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 132.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 278; SEQ ID NO: 279 и SEQ ID NO: 280, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 134.

Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 271, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131; полинуклеотида SEQ ID NO: 272, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 132; полинуклеотида SEQ ID NO: 273, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133; полинуклеотида SEQ ID NO: 274, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 134; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 275; SEQ ID NO: 276 и SEQ ID NO: 277) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 132; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 278; SEQ ID NO: 279 и SEQ ID NO: 280) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 134.

В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты

(антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab14, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab14, включают или, в альтернативном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 272, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 132, и полинуклеотида SEQ ID NO: 274, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 134.

Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab14 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например Ab14, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab14 в клетках млекопитающих, например клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

В одном варианте воплощения настоящее изобретение направлено на выделенный полинуклеотид, включающий полинуклеотид, кодирующий аминокислотную последовательность  $V_H$  антитела против CGRP, выбранную из SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103, 113, 123 или 133, или кодирующий ее вариант, где по меньшей мере один каркасный остаток (FR-остаток) замещен аминокислотой, присутствующей в соответствующем положении  $V_H$ -полипептида антитела кролика против CGRP, или путем консервативной аминокислотной замены.

В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение направлено на выделенный полинуклеотид, включающий полинуклеотидную последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность  $V_L$  антитела против CGRP 1, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121 или 131, или кодирующую ее вариант, где по меньшей мере один каркасный остаток (FR-остаток) замещен аминокислотой, присутствующей в соответствующем положении  $V_L$ -полипептида антитела кролика против CGRP, или путем консервативной аминокислотной замены.

В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение направлено на один или более из гетерологичных полинуклеотидов, включающих последовательность, кодирующую полипептиды, содержащиеся в SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 3; SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 13; SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 23; SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 33; SEQ ID NO: 41 и SEQ ID NO: 43; SEQ ID NO: 51 и SEQ ID NO: 53; SEQ ID NO: 61 и SEQ ID NO: 63; SEQ ID NO: 71 и SEQ ID NO: 73; SEQ ID NO: 81 и SEQ ID NO: 83; SEQ ID NO: 91 и SEQ ID NO: 93; SEQ ID NO: 101 и SEQ ID NO: 103; SEQ ID NO: 111 и SEQ ID NO: 113; SEQ ID NO: 121 и SEQ ID NO: 123; или SEQ ID NO: 131 и SEQ ID NO: 133.

В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение направлено на выделенный полинуклеотид, экспрессирующий полипептид, содержащий по меньшей мере один CDR-полипептид, происходящий от антитела против CGRP, причем указанный экспрессированный полипептид сам по себе специфически связывает CGRP или специфически связывает CGRP при экспрессии в сочетании с еще одной полинуклеотидной последовательностью, экспрессирующей полипептид, содержащий по меньшей мере один CDR-полипептид, происходящий от антитела против CGRP, причем указанный по меньшей мере один CDR выбран из CDR, содержащихся в  $V_L$ - или  $V_H$ -полипептидах SEQ ID NO: 1, 3, 11, 13, 21, 23, 31, 33, 41, 43, 51, 53, 61, 63, 71, 73, 81, 83, 91, 93, 101, 103, 111, 113, 121, 123, 131 или SEQ ID NO: 133.

Кроме того, рассматриваются клетки-хозяева и векторы, включающие указанные полинуклеотиды.

Кроме того, настоящее изобретение рассматривает векторы, включающие полинуклеотидные последовательности, кодирующие полипептидные последовательности переменных областей тяжелых и легких цепей, а также отдельные области, определяющие комплементарность (CDR или гипервариабельные области), как изложено здесь, а также клетки-хозяева, включающие последовательности указанных векторов. В одном варианте воплощения настоящего изобретения клетка-хозяин является дрожжевой клеткой. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения указанная дрожжевая клетка-хозяин принадлежит к роду *Pichia*.

Скрининг и выделение В-клеток.

В одном варианте воплощения настоящее изобретение рассматривает получение и выделение клональной популяции антиген-специфических В-клеток, которые можно использовать для выделения по меньшей мере одной клетки, специфичной по отношению к антигену CGRP, которую можно использовать для продукции моноклонального антитела против CGRP, специфичного к желательному антигену CGRP, или нуклеотидной последовательности, соответствующей такому антителу. Способы получения и выделения указанной клональной популяции антиген-специфических В-клеток изложены, например, в патентной публикации США № 2007/0269868 Carvalho-Jensen et al., раскрытие которой полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки. Способы получения и выделения указанной клональной популяции антиген-специфических В-клеток также описаны здесь в примерах. В данной области техники

известны способы "обогащения" клеточной популяции по размеру или плотности; см., например, патент США 5627052. Эти этапы можно использовать в дополнение к обогащению популяции клеток по антигенной специфичности.

Способы гуманизации антител.

В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение рассматривает способы гуманизации тяжелых и легких цепей антител. Способы гуманизации тяжелых и легких цепей антител, которые можно применять к антителам против CGRP, изложены, например, в публикации патентной заявки США № 2009/0022659 Olson et al. и в патенте США № 7935340 Garcia-Martinez et al., раскрытие каждого из которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

Способы получения антител и их фрагментов.

В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение рассматривает способы получения антител против CGRP и их фрагментов. Способы получения антител против CGRP и их фрагментов, секретрируемых от полиплоидных, предпочтительно диплоидных или тетраплоидных штаммов дрожжей, компетентных по спариванию, изложены, например, в публикации патентной заявки США № 2009/0022659 Olson et al. и в патенте США № 7935340 Garcia-Martinez et al., раскрытие каждого из которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

Другие способы получения антител хорошо известны специалистам в данной области техники. Например, способы получения химерных антител в настоящее время хорошо известны в данной области техники (см., например, патент США № 4816567 Cabilly et al.; Morrison et al., P.N.A.S. USA, 81:8651-55 (1984); Neuberger, M.S. et al., Nature, 314:268-270 (1985); Boulianne, G.L. et al., Nature, 312:643-46 (1984), раскрытие каждого из которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки). Аналогично, другие способы получения гуманизованных антител в настоящее время хорошо известны в данной области техники (см., например, патенты США № 5530101, 5585089, 5693762 и 6180370 Queen et al.; патенты США № 5225539 и 6548640 Winter; патенты США № 6054297, 6407213 и 6639055 Carter et al.; патент США № 6632927 Adair; Jones, P.T. et al., Nature, 321:522-525 (1986); Reichmann, L., et al., Nature, 332:323-327 (1988); Verhoeven, M., et al., Science, 239:1534-36 (1988), раскрытие каждого из которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки). Полипептиды антител по настоящему изобретению, обладающие специфичностью связывания с CGRP, также можно получить путем конструирования с использованием стандартных методик, хорошо известных специалистам в данной области техники, экспрессирующего вектора, включающего оперон и последовательность ДНК, кодирующую тяжелую цепь антитела, причем последовательность ДНК, кодирующая CDR, необходимые для специфичности антитела, получена из источника клеток нечеловеческого происхождения, предпочтительно из В-клеток кролика, а последовательность ДНК, кодирующая оставшиеся фрагменты цепи антитела, получена из источника клеток человеческого происхождения.

Второй экспрессирующий вектор получают с использованием тех же стандартных средств, хорошо известных специалистам в данной области техники, причем указанный экспрессирующий вектор содержит оперон и последовательность ДНК, кодирующую легкую цепь антитела, причем последовательность ДНК, кодирующая CDR, необходимые для специфичности антитела, получена из источника клеток нечеловеческого происхождения, предпочтительно из В-клеток кролика, а последовательность ДНК, кодирующая оставшиеся фрагменты цепи антитела, получена из источника клеток человеческого происхождения.

Указанные векторы экспрессии трансфицируют в клетку-хозяина с помощью стандартных методик, хорошо известных специалистам в данной области техники, с целью получения трансфицированной клетки-хозяина, причем указанную трансфицированную клетку-хозяина культивируют с помощью стандартных методик, хорошо известных специалистам в данной области техники, с целью получения указанных полипептидов антител.

Клетку-хозяина можно совместно трансфицировать двумя экспрессирующими векторами, описанными выше, причем первый экспрессирующий вектор содержит ДНК, кодирующую оперон и полипептид, происходящий от легкой цепи, а второй вектор содержит ДНК, кодирующую оперон и полипептид, происходящий от тяжелой цепи. Указанные два вектора содержат различные селективные маркеры, но предпочтительно достигают практически равной экспрессии полипептидов тяжелой и легкой цепей. В качестве альтернативы можно использовать единственный вектор, включающий ДНК, кодирующую полипептиды как тяжелой, так и легкой цепей. Кодированные последовательности тяжелой и легкой цепей могут содержать к ДНК геномную ДНК, или обе из них.

Клетки-хозяева, используемые для экспрессии полипептидов антител, могут быть бактериальной клеткой, например *E. coli*, или эукариотической клеткой, например *P. pastoris*. В одном варианте воплощения настоящего изобретения для этой цели можно использовать клетку млекопитающего хорошо определенного типа, например миеломную клетку, линию клеток яичника китайского хомячка (СНО), линию клеток NSO или линию клеток НЕК 293. Общие способы конструирования векторов, способы трансфекции, необходимые для получения клетки-хозяина, и способы культивирования, необходимые для получения полипептидов антител из указанных клеток-хозяев, включают стандартные методики. Хотя в предпочтительном случае линия клеток, используемая для получения антител, является линией кле-

ток млекопитающего, в качестве альтернативы можно использовать любую другую подходящую линию клеток, например бактериальную линию клеток, например бактериальный штамм, происходящий от *E. coli*, или дрожжевую клеточную линию.

Аналогично, после получения полипептиды антител можно очистить в соответствии со стандартными процедурами, известными в данной области техники, например фильтрацией в тангенциальном потоке, осаждением сульфатом аммония, аффинной колоночной хроматографией и т.п.

Полипептиды антител, описанные здесь, также можно использовать для разработки и синтеза пептида или непептидных миметиков, потенциально пригодных для тех же терапевтических вариантов применения, что и полипептиды антител по изобретению; см., например, статью Saragobi et al., *Science*, 253:792-795 (1991), описание которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

Способы облегчения или уменьшения симптомов, или лечения или предотвращения заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP.

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, описанные здесь, или их фрагменты можно применять для облегчения или снижения симптомов или лечения или предотвращения светобоязни. В предпочтительном варианте воплощения показано, что антитела или фрагменты антител против CGRP эффективны (блокируют неблагоприятные побочные эффекты, связанные с избытком циркулирующего CGRP, в том числе поведение, связанное с отвращением к свету), в животной модели грызунов, раскрытой в примере 8.

Антитела против CGRP, описанные здесь, или их фрагменты, а также комбинации также можно вводить в терапевтически эффективном количестве пациентам, нуждающимся в лечении заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP, для лечения или профилактики светобоязни, в виде фармацевтической композиции, как более подробно описано ниже.

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения описанные здесь антитела против CGRP или их фрагменты можно применять для облегчения или снижения симптомов, или лечения, или профилактики мигрени (с аурой или без нее), потери массы тела, рака или опухолей, ангиогенеза, связанного с раковым или опухолевым ростом, ангиогенеза, связанного с выживанием рака или опухоли, боли, гемиплегической мигрени, кластерных головных болей, мигренозной невралгии, хронических головных болей, головных болей напряжения, общей головной боли, мигрени без головной боли, мигрени с тошнотой и рвотой, "приливов", хронической пароксизмальной гемикрании, вторичных головных болей вследствие основной структурной проблемы в области головы или шеи, черепной невралгии, синусных головных болей (например, связанных с синуситом), и головных болей или мигрени, вызванных аллергией.

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, описанные здесь, или их фрагменты в комбинации со вторым агентом или без него можно применять для облегчения или снижения симптомов или лечения или предотвращения светобоязни, связанной со следующим неограничивающим списком заболеваний и расстройств: нейрогенной, невропатической или ноцицептической болью. Невропатическая боль может включать невралгию тройничного нерва, постгерпетическую невралгию, фантомную боль конечностей, фибромиалгию, менструальную боль, овариалгию, рефлекторную симпатическую дистрофию и нейрогенную боль, но не ограничивается ими. В других предпочтительных вариантах воплощения антитела против CGRP, описанные здесь, или их фрагменты в комбинации со вторым агентом или без него можно применять для облегчения или снижения симптомов или лечения или предотвращения светобоязни, связанной с болью при остеоартрите или ревматоидном артрите, болью в пояснице, диабетической невропатии, пояснично-крестцовом радикулите и другой невропатической болью.

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения описанные здесь антитела против CGRP или их фрагменты в комбинации со вторым агентом или без него можно применять для облегчения или снижения симптомов или лечения или предотвращения светобоязни, связанной со следующим неограничивающим списком заболеваний и расстройств: висцеральной болью, или, конкретнее, связанной с желудочно-пищеводным рефлюксом, диспепсией, синдромом раздраженного кишечника, воспалительным заболеванием кишечника, болезнью Крона, илеитом, язвенным колитом, почечной коликой, дисменореей, циститом, менструальным периодом, родами, менопаузой, простатитом или панкреатитом.

Введение.

В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела или фрагменты против CGRP, описанные здесь, или антитела или фрагменты против CGRP-R, а также комбинации указанных антител или фрагментов антител для лечения или профилактики светобоязни вводят субъекту в концентрации между приблизительно 0,1 и 100,0 мг/кг массы тела субъекта-реципиента. В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, описанные здесь, или их CGRP-связывающие фрагменты, а также комбинации указанных антител или фрагментов антител вводят субъекту в концентрации приблизительно 0,4 мг/кг массы тела субъекта-реципиента. В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, описанные здесь, или их CGRP-связывающие фрагменты, а также комбинации указанных антител или фрагментов антител вводят субъекту-реципиенту с частотой раз в двадцать шесть недель или менее, например раз в шестнадцать недель

или менее, раз в восемь недель или менее, раз в четыре недели или менее, раз в две недели или менее, раз в неделю или менее или раз в день или менее.

Fab-фрагменты для лечения или профилактики светобоязни можно вводить раз в две недели или менее, раз в неделю или менее, раз в день или менее, несколько раз в день и/или раз в несколько часов. В одном варианте воплощения настоящего изобретения пациент получает Fab-фрагменты в количестве от 0,1 до 40 мг/кг в день в разделенных дозах от 1 до 6 раз в день или в форме с замедленным высвобождением, эффективной для получения желательных результатов.

Следует понимать, что концентрация антитела или Fab, вводимого данному пациенту для лечения или профилактики светобоязни, может быть больше или меньше, чем типичные вводимые концентрации, представленные выше. Специалист в данной области техники может экспериментально определить эффективную дозировку и частоту приема для лечения или профилактики светобоязни в рабочем порядке, например, руководствуясь настоящим раскрытием и информацией в Goodman, L.S., Gilman, A., Brunton, L.L., Lazo, J.S., & Parker, K.L. (2006). Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. New York: McGraw-Hill; Howland, R.D., Mycek, M.J., Harvey, R.A., Champe, P.C., & Mycek, M.J. (2006). Pharmacology. Lippincott's illustrated reviews. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; and Golan, D.E. (2008). Principles of pharmacology: the pathophysiological basis of drug therapy. Philadelphia, Pa., [etc.]: Lippincott Williams & Wilkins.

В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, описанные здесь, или их CGRP-связывающие фрагменты, а также комбинации указанных антител или фрагментов антител для лечения или профилактики светобоязни вводят субъекту в фармацевтическом составе.

"Фармацевтическая композиция" относится к химической или биологической композиции, подходящей для введения млекопитающему. Такие композиции можно специально составить для введения посредством одного или более из ряда путей, включая буккальное, накожное, эпидуральное, ингаляционное, внутриартериальное, внутрисердечное, интрацеребровентрикулярное, внутривоковое, внутримышечное, интраназальное, внутриглазное, внутрибрюшинное, интраспинальное, интратекальное, внутривенное, пероральное, парентеральное, ректальное (путем клизмы или суппозитория), подкожное, субдермальное, сублингвальное, трансдермальное и трансмукозальное введение, но не ограничиваясь ими. Кроме того, введение можно осуществлять с помощью инъекций, порошка, жидкости, геля, капель или других средств для введения.

В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, описанные здесь, или их CGRP-связывающие фрагменты, а также комбинации указанных антител или фрагментов антител для лечения или профилактики светобоязни можно необязательно вводить в комбинации с одним или более активных агентов. Такие активные агенты включают анальгетики, антигистаминные, жаропонижающие, противовоспалительные агенты, антибиотики, противовирусные и антицитокининовые агенты. Активные агенты включают агонисты, антагонисты и модуляторы ФНО- $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, EL-18, IFN- $\alpha$ , IFN- $\lambda$ , BAFF, CXCL13, IP-10, ФРЭС, ЕРО, ЭФР, HRG, фактор роста гепатоцитов (ФРГ), гепцидин, в том числе антитела, активные против любого из вышеперечисленных агентов, а также антитела, активные против любого из их рецепторов. Активные агенты также включают 2-арилпропионовые кислоты, ацеклофенак, ацетметацин, ацетилсалициловую кислоту (аспирин), алклофенак, альминопрофен, эмоксипин, ампирон, арилалкановые кислоты, азапропазон, бенорилат, беноксапрофен, бромпрофен, карпрофен, целекоксиб, холинсалицилат магния, клофезон, ингибиторы СОХ-2, дексипрофен, декскетопрофен, диклофенак, дифлунизал, дроксикам, этензамид, этодолак, эторикоксиб, физаламин, фенамовые кислоты, фенбуфен, фенпрофен, флуфенамовую кислоту, флуноксапрофен, флурбипрофен, ибупрофен, ибупроксам, индометацин, индопрофен, кебузон, кетопрофен, кеторолак, лорноксикам, локсопрофен, люмиракоксиб, магния салицилат, меклофенамовую кислоту, мефенамовую кислоту, мелоксикам, метамизол, метилсалицилат, мофебутазон, набуметон, напроксен, N-арилантраниловые кислоты, фактор роста нервов (NGF), оксаметацин, оксапрозин, оксикамы, оксифенбутазон, парекоксиб, феназон, фенилбутазон, пироксикам, пирпрофен, профены, проглуметацин, производные пиразолидина, рофекоксиб, салицилсалицилат, салициламид, салицилаты, вещество Р, сульфипиразон, сулиндак, супрофен, теноксикам, тиaproфеновую кислоту, толфенамовую кислоту, толметин и вальдекоксиб, но не ограничиваются ими. Антигистаминный агент может быть любым соединением, противодействующим гистамину или его высвобождению из клеток (например, тучных клеток). Антигистаминные агенты включают акривастин, астемизол, азатадин, азеластин, бетатастин, бромфенирамин, буклизин, цетиризин, аналоги цетиризина, хлорфенирамин, клемастин, CS 560, ципрогептадин, дезлоратадин, дексхлорфенирамин, эбастин, эпинастин, фексофенадин, HSR 609, гидроксизин, левокабастин, лоратидин, метскополамин, мизоластин, норастемизол, фениндамин, прометазин, пириламид, терфенадин и триналаст, но не ограничиваются ими.

Антибиотики включают амикацин, аминогликозиды, амоксициллин, ампициллин, ансамицины, арсфенамин, азитромицин, азлоциллин, азтреонам, бацитрацин, карбацефем, карбапенемы, карбенициллин, цефаклор, цефадроксил, цефалексин, цефалотин, цефамандол, цефазолин, цефдинир, цефдиторен, цефепим, цефиксим, цефоперазон, цефотаксим, цефокситин, цефподоксим, цефпрозил, цефтазидим, цеф-

тибутен, цефтизоксим, цефтобипрол, цефтриаксон, цефуроксим, цефалоспорины, хлорамфеникол, цила-статин, ципрофлоксацин, кларитромицин, клиндамицин, клоксациллин, колистин, ко-тримоксазол, дал-фопристин, демеклоциклин, диклоксациллин, диритромицин, дорипенем, доксициклин, эноксацин, эрта-пенем, эритромицин, этамбутол, флуклоксациллин, фосфомицин, фуразолидон, фузидиевую кислоту, гатифлоксацин, гелданамицин, гентамицин, гликопептиды, гербимицин, имипенем, изониазид, канами-цин, левофлоксацин, линкомицин, линезолид, ломефлоксацин, лоракарбеф, макролиды, мафенид, меро-пенем, метициллин, метронидазол, мезлоциллин, миноциклин, монобактамы, моксифлоксацин, мупиро-цин, нафциллин, неомицин, нетилмицин, нитрофурантоин, норфлоксацин, офлоксацин, оксациллин, ок-ситетрациклин, паромомицин, пенициллин, пенициллины, пиперациллин, платензимицин, полимиксин В, полипептиды, пронтозил, пиразинамид, хинолоны, хинупристин, рифампицин, рифампин, рокситро-мицин, спектиномицин, стрептомицин, сульфациетамид, сульфаметизол, сульфаниламид, сульфасалазин, сульфисоксазол, сульфонамиды, тейкоплагин, телитромицин, тетрациклин, тетрациклины, тикарциллин, тинидазол, тобрамицин, триметоприм, триметоприм-сульфаметоксазол, тролеандомицин, тровафлокса-цин и ванкомицин, но не ограничиваются ими.

Активные агенты также включают альдостерон, беклометазон, бетаметазон, кортикостероиды, кортизол, кортизона ацетат, дезоксикортикостерона ацетат, дексаметазон, флудрокортизона ацетат, глюко-кортикоиды, гидрокортизон, метилпреднизолон, преднизолон, преднизон, стероиды и триамцинолон. Кроме того, рассматривается любая подходящая комбинация указанных активных агентов. В предпочти-тельных вариантах воплощения рассматриваемые антитела и фрагменты антител можно вводить в рам-ках терапевтической схемы, включающей соединения, обычно используемые для лечения мигрени, в том числе мигрени, связанной со светобоязнью. Примеры, приведенные здесь, включают анальгетики, на-пример НПВП. Примеры включают упомянутые выше НПВП, например ибупрофен, напроксен, сумат-риптан, парацетамол/ацетаминофен, по отдельности или в комбинации с метоклопрамидом и кофеином.

Обычно применяют триптаны, например суматриптан, как и эрготамины, например эрготамин. Кроме того, можно применять кортикостероиды. Кроме того, антимиметики могут помочь облегчить симптомы тошноты и помогают предотвратить рвоту, которая может снизить эффективность перораль-ных анальгетиков. Кроме того, некоторые противорвотные средства, например метоклопрамид, являются прокинетики и способствуют опорожнению желудка, которое часто нарушается во время эпизодов мигрени. Три комбинации противорвотных и обезболивающих препаратов, используемые при мигрени, включают: аспирин с метоклопрамидом; парацетамол/кодеин для обезболивания с буклизинном в качест-ве противорвотного средства и парацетамол/метоклопрамид.

"Фармацевтический наполнитель" или "фармацевтически приемлемый наполнитель" является носи-телем, обычно жидким, используемым для получения состава активного терапевтического агента. В од-ном варианте воплощения настоящего изобретения активный терапевтический агент является гуманизи-рованным антителом, описанным здесь, или одним или более из его фрагментов. Наполнитель обычно не обеспечивает фармакологическую активность состава, хотя может обеспечивать химическую и/или био-логическую стабильность и характеристики высвобождения. Типичные составы можно найти, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, 19<sup>th</sup> Ed., Grennago, A., Ed., 1995, включенном в настоящий доку-мент посредством ссылки. Как используется здесь, термин "фармацевтически приемлемый носитель" или "наполнитель" включает всевозможные растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериаль-ные и противогрибковые агенты, изотонические и задерживающие всасывание агенты, которые являются физиологически совместимыми. В одном из вариантов воплощения носитель подходит для парентераль-ного введения. В качестве альтернативы носитель может быть пригоден для внутривенного, внутримыш-цинного, внутримышечного или сублингвального введения. Фармацевтически приемлемые носители включают стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для немедленного приема или стерильные растворы или дисперсии для инъекций. Использование таких сред и агентов в комбина-ции с фармацевтически активными веществами хорошо известно в данной области техники. Кроме того, поскольку любая обычная среда или агент несовместимы с активным соединением, рассматривается их использование в фармацевтических композициях по изобретению. В композиции можно также включать дополнительные активные соединения. Фармацевтические композиции обычно должны быть стериль-ными и стабильными в условиях производства и хранения. Настоящее изобретение предусматривает, что фармацевтическая композиция присутствует в лиофилизированной форме. Композицию можно соста-вить в виде раствора, микроэмульсии, липосомы или другой упорядоченной структуры, подходящей для высокой концентрации лекарственного агента. Носитель может быть растворителем или дисперсионной средой, содержащей, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль) и их подходящие смеси. Настоящее изобретение дополнительно рассматривает включение стабилизатора в состав фармацевтической композиции. Надлежащую текучесть можно под-держивать, например, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем ис-пользования ПАВ. Во многих случаях предпочтительно включать в композицию изотонические агенты, например сахара, многоатомные спирты, например маннит, сорбит, или хлорид натрия. Длительное по-глощение композиций, вводимых путем инъекции, можно осуществить путем включения в композицию агента, замедляющего поглощение, например солей моностеарата и желатина. Кроме того, в состав с за-

медленным высвобождением, например в композицию, включающую полимер для медленного высвобождения, можно включить щелочной полипептид. Активные соединения можно изготовить в комбинации с носителями, защищающими соединение от быстрого высвобождения, например препаратами контролируемого высвобождения, включая импланты и микрокапсулированные системы доставки. Можно использовать биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, например этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевую кислоту, коллаген, полиортоэферы, полимолочную кислоту и сополимеры полимолочной и полигликолевой кислот (PLG). Многие способы изготовления таких составов известны специалистам в данной области техники. В каждом из упомянутых вариантов воплощения соединения можно вводить в различных лекарственных формах. Рассматриваются любые биологически приемлемые лекарственные формы, известные специалистам в данной области техники, и их комбинации. Примеры таких лекарственных форм включают, без ограничения, восстанавливаемые порошки, эликсиры, жидкости, растворы, суспензии, эмульсии, порошки, гранулы, частицы, микрочастицы, диспергируемые гранулы, облатки, препараты для ингаляции, аэрозоли для ингаляции, пластыри, препараты частиц для ингаляции, импланты, депо-импланты, препараты для инъекций (в том числе подкожных, внутримышечных, внутривенных и внутрикожных), вливаний, и их комбинаций. Вышупоказанное описание различных иллюстрированных вариантов воплощения настоящего изобретения не следует считать исчерпывающим или жестко ограничивающим настоящее изобретение раскрытой конкретной формой. Несмотря на то что здесь описаны конкретные варианты воплощения и примеры настоящего изобретения в целях иллюстрации, специалисты в данной области техники должны понимать, что возможны различные эквивалентные модификации, входящие в рамки изобретения. Информацию об изобретении, представленную здесь, можно применять для других целей, отличающихся от описанных выше примеров.

Указанные и другие изменения можно вносить в изобретение в свете вышеприведенного подробного описания. В общем случае, термины, использованные в следующей формуле изобретения, следует интерпретировать не как ограничения изобретения конкретными вариантами воплощения, описанными в настоящем документе и формуле изобретения. Соответственно настоящее изобретение не ограничивается указанным раскрытием, и рамки изобретения должны определяться исключительно прилагаемой формулой изобретения.

Настоящее изобретение можно реализовать способами, отличающимися от способов, явным образом описанных в вышеприведенном описании и примерах. В свете вышеприведенной информации возможны различные модификации и изменения настоящего изобретения, которые, таким образом, находятся в рамках прилагаемой формулы изобретения.

Некоторые аспекты информации, относящейся к способам получения клональной популяции антиген-специфичных В-клеток, были раскрыты в предварительной патентной заявке США № 60/801412, поданной 19 мая 2006 г., раскрытие которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. Некоторые аспекты информации, относящейся к гуманизации моноклональных антител кролика и предпочтительных модификаций последовательности для поддержания средства связывания с антигеном, были раскрыты в международной заявке № PCT/US2008/064421, что соответствует международной публикации № WO/2008/144757 под названием "Novel Rabbit Antibody Humanization Methods and Humanized Rabbit Antibodies", поданной 21 мая 2008 г., раскрытие которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. Некоторые аспекты информации, относящейся к получению антител или их фрагментов с помощью дрожжей, компетентных по спариванию, и соответствующим способам, были раскрыты в патентной заявке США № 11/429053, поданной 8 мая 2006 г. (публикация патентной заявки США № US2006/0270045), раскрытие которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

Некоторые полинуклеотиды и полипептиды антител против CGRP раскрыты в списке последовательностей, прилагаемом к настоящей подаваемой патентной заявке, и раскрытие указанного списка последовательностей полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

Полное раскрытие каждого документа (включая патенты, заявки на патенты, журнальные статьи, рефераты, учебные пособия, книги или другие раскрытия), цитируемого в разделах "Уровень техники", "Подробное описание изобретения" и "Примеры", полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

Следующие примеры представлены с целью обеспечить специалистов в данной области техники полным раскрытием и описанием способов реализации и применения рассматриваемого изобретения, и не предназначены для ограничения рамок и сущности изобретения. Были предприняты усилия для обеспечения точности используемых чисел (например, количеств, температуры, концентраций и т.д.), однако следует допустить некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, доли являются массовыми долями, молекулярная масса является средней молекулярной массой, температура приведена в градусах Цельсия, а давление равно или близко к атмосферному.

#### **Примеры**

Пример 1. Получение антител, связывающих CGRP.

За счет применения протокола отбора антител, описанного здесь, можно получить расширенную панель антител.

Стратегия иммунизации.

Кроликов иммунизировали CGRP $\alpha$  человека (American Peptides, Саннивейл, штат Калифорния, США и Bachem, Торранс, штат Калифорния, США). Иммунизация состояла из первой подкожной (п/к) инъекции 100 мкг антигена, смешанного с 100 мкг KLH в полном адьюванте Фрейнда (CFA) (Sigma) с последующими двумя стимуляциями, разнесенными во времени на две недели, каждая из которых содержала 50 мкг антигена, смешанного с 50 мкг в неполном адьюванте Фрейнда (IFA) (Sigma). У животных выполняли отбор крови в день 55 и определяли титры в сыворотке крови с помощью твердофазного ИФА (распознавание антигена) и путем ингибирования CGRP-зависимого повышения уровня цАМФ в SK-N-MC.

Оценка титра при отборе антитела.

С целью выявления и описания характеристик антител, связывающихся с CGRP $\alpha$  человека, растворы антител тестировали с помощью твердофазного ИФА. Вкратце, планшеты, покрытые нейтравидином (Thermo Scientific), покрывали CGRP $\alpha$  человека, биотинилированным по N-концу (50 мкл на лунку, 1 мкг/мл), разбавленным буфером для твердофазного ИФА (0,5% желатина рыбьей кожи в PBS, pH 7,4) в течение приблизительно 1 ч при комнатной температуре или, в качестве альтернативы, в течение ночи при 4°C. Затем планшеты дополнительно блокировали буфером для твердофазного ИФА в течение 1 ч при комнатной температуре и промывали буфером для промывки (PBS, 0,05% твин-20). Протестированные образцы сыворотки последовательно разбавляли буфером для твердофазного ИФА. 50 мкл разбавленных образцов сыворотки переносили в лунки и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. После указанного инкубирования планшет промывали буфером для промывки. Для развития ответа в лунки добавляли специализированный Fc-ПХ против антител кролика (разбавление 1:5000 в буфере для твердофазного ИФА) и инкубировали в течение 45 мин при комнатной температуре. После этапа 3-кратной промывки раствором для промывки планшет обрабатывали субстратом ТМВ в течение 2 мин при комнатной температуре и останавливали реакцию с помощью 0,5 М HCl. Поглощение в лунках считывали при 450 нм.

Определение титра образцов сыворотки крови по функциональной активности (ингибирование CGRP-зависимых уровней цАМФ).

С целью выявления и описания характеристик антител с функциональной активностью выполняли анализ ингибирования CGRP-зависимого повышения уровней цАМФ с использованием электрохемилюминесценции (Meso Scale Discovery, MSD). Вкратце, препараты антител, подлежащие тестированию, последовательно разбавляли в буфере для анализа MSD (Hepes, MgCl<sub>2</sub>, pH 7,3, 1 мг/мл блокатора А, Meso Scale Discovery) в 96-луночном круглодонном полистирольном планшете (Costar). В указанный планшет добавляли CGRP $\alpha$  человека (конечная концентрация 10 нг/мл), разбавленный буфером для анализа MSD, и инкубировали в течение 1 ч при 37°C. Согласно указаниям изготовителя аналитического набора использовали соответствующие контроли. Клетки нейтрофилы человека (SK-N-MC, ATCC) отделяли с помощью раствора ЭДТА (5 мМ в PBS) и промывали ростовой средой (MEM, 10% FBS, антибиотики) посредством центрифугирования. Количество клеток доводили до 2 млн клеток на 1 мл в буфере для анализа и добавляли IBMX (3-изобутил-1-метилксантин, Sigma) до конечной концентрации 0,2 мМ непосредственно перед загрузкой клеток в планшет для анализа цАМФ. После инкубирования раствора антитела против CGRP $\alpha$  человека в течение 1 ч 20 мкл раствора, содержащего клетки, переносили в планшет для анализа цАМФ. Все образцы тестировали в двух повторностях с соответствующими контролями. 10 мкл клеток добавляли в лунки и инкубировали планшет в течение 30 мин при встряхивании и комнатной температуре. Во время инкубирования клеток с раствором CGRP готовили стоп-раствор путем получения раствора TAG-меченого цАМФ (MSD) в лизирующем буфере (MSD) в разбавлении 1:200. Для остановки инкубирования клеток с CGRP к клеткам добавляли 20 мкл стоп-раствора и инкубировали планшет в течение 1 ч при встряхивании и комнатной температуре. Буфер для считывания (MSD) разбавляли в четыре раза водой и добавляли 100 мкл в каждую лунку планшета. Затем планшет считывали с помощью Sector Imager 2400 (MSD) и использовали программное обеспечение Prism для аппроксимации данных и определения IC<sub>50</sub>.

Сбор ткани.

После установления приемлемых титров кролика(ов) умерщвляли.

Селезенку, лимфатические узлы и цельную кровь собирали и обрабатывали следующим образом.

Селезенку и лимфатические узлы перерабатывали в суспензию отдельных клеток путем диссоциации ткани и продавливания через стерильную проволочную сетку с размером ячеек 70 мкм (Fisher) плунжером 20-мл шприца. Клетки собирали в PBS. Клетки дважды промывали центрифугированием. После последней промывки определяли плотность клеток с помощью трипанового синего. Клетки центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин, супернатант удаляли. Клетки ресуспендировали в соответствующем объеме 10% диметилсульфоксида (ДМСО, Sigma) в FBS (Hyclone) и разливали по 1 мл/флакон. Флаконы хранили при -70°C в камере медленной заморозки в течение 24 ч и хранили в жидком азоте.

Мононуклеарные клетки периферической крови (МПК) выделяли путем смешивания цельной крови

с равными частями среды с низким содержанием глюкозы, описанной выше, не содержащей FBS. 35 мл смеси цельной крови осторожно насливали на 8 мл Lympholyte Rabbit (Cedarlane) в 45-мл конической пробирке (Corning) и центрифугировали в течение 30 мин при 2500 об/мин при комнатной температуре без тормозной системы. После центрифугирования слой МПК тщательно удаляли с помощью стеклянной пипетки Пастера (VWR), объединяли и помещали в чистый 50-мл флакон. Клетки дважды промывали модифицированной средой, описанной выше, путем центрифугирования при 1500 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре и определяли плотность клеток путем окрашивания трипановым синим. После последней промывки клетки ресуспендировали в соответствующем объеме 10% ДМСО/FBS-среды и замораживали, как описано выше.

Отбор, обогащение и условия культивирования В-клеток.

В день создания культуры В-клеток МПК, спленоциты или флаконы с клетками лимфоузлов подвергали оттаиванию для использования. Флаконы извлекали из резервуара LN2 и помещали в водяную баню при 37°C до оттаивания. Содержание флаконов переносили в 15-мл коническую центрифужную пробирку (Corning) и медленно добавляли в пробирку 10 мл модифицированной среды RPMI, описанной выше. Клетки центрифугировали в течение 5 мин при 2000 об/мин, супернатант удаляли. Клетки ресуспендировали в 10 мл свежей среды. Плотность и жизнеспособность клеток определяли с помощью трипанового синего.

а) Следующий протокол использовали для Ab1 и Ab13.

Клетки предварительно смешивали с биотинилированным CGRP $\alpha$  человека следующим образом. Клетки повторно промывали и ресуспендировали из расчета 1E07 клеток/80 мкл среды. Биотинилированный CGRP $\alpha$  человека добавляли к суспензии клеток в конечной концентрации 5 мкг/мл и инкубировали в течение 30 мин при 4°C.

Несвязанный биотинилированный CGRP $\alpha$  человека удаляли посредством двух 10-мл промывок с использованием PBF [PBS, не содержащий Ca/Mg (Hyclone), 2 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), 0,5% бычьего сывороточного альбумина (BSA) (Sigma - без биотина)]. После второй промывки клетки ресуспендировали из расчета 1E07 клеток/80 мкл PBF и добавляли к суспензии клеток 20 мкл стрептавидиновых гранул MACS® (Miltenyi Biotec, Оберн, штат Калифорния, США) на 10E7 клеток. Клетки и гранулы инкубировали при 4°C в течение 15 мин и однократно промывали 2 мл PBF на 10E7 клеток.

б) Следующий протокол использовали для Ab4, Ab7, Ab9 и Ab11.

Биотинилированный CGRP $\alpha$  человека предварительно добавляли к стрептавидиновым гранулам следующим образом. 75 мкл стрептавидиновых гранул (Miltenyi Biotec, Оберн, штат Калифорния, США) смешивали с huCGRP $\alpha$ , биотинилированным по N-концу (конечная концентрация 10 мкг/мл) и 300 мкл PBF. Указанную смесь инкубировали при 4°C в течение 30 мин, несвязанный биотинилированный CGRP $\alpha$  человека удаляли с использованием разделительной колонки MACS® (Miltenyi Biotec) при промывке 1 мл с целью удаления несвязанного материала.

Затем материал выгружали, затем использовали для ресуспендирования клеток из расчета 100 мкл на 1E7 клеток, затем инкубировали смесь при 4°C в течение 30 мин и однократно промывали 10 мл PBF.

Как для протокола а), так и б) применимо следующее: после промывки клетки ресуспендировали в 500 мкл PBF и откладывали. Колонку MACS® MS (Miltenyi Biotec, Оберн, штат Калифорния, США) предварительно промывали 500 мл PBF на магнитной подставке (Miltenyi). Суспензию клеток наносили на колонку через предварительный фильтр и собирали несвязанную фракцию. Колонку промывали 2,5 мл буфера PBF. Колонку снимали с магнитной подставки и помещали на чистую, стерильную 1,5-мл пробирку Эппендорфа. Сверху на колонку добавляли 1 мл буфера PBF и собирали положительные отобранные клетки. Выход и жизнеспособность положительной фракции клеток определяли с помощью окрашивания трипанового синего. Выход положительного отбора составлял в среднем 1% от начальной концентрации клеток.

Для получения информации об уровнях диссеминации культуры провели предварительный скрининг клеток. Планшеты засевали из расчета 10, 25, 50, 100 или 200 обогащенных В-клеток/лунку. Кроме того, каждая лунка содержала облученные клетки EL-4.B5 (5000 рад) из расчета 50000 клеток/лунку и соответствующий уровень супернатанта активированных Т-клеток кролика (см. публикацию патентной заявки США № 20070269868) (в диапазоне 1-5% в зависимости от препарата) в модифицированной среде RPMI с высоким уровнем глюкозы при конечном объеме 250 мкл/лунку. Культуры инкубировали в течение 5-7 дней при 37°C и 4% CO<sub>2</sub>.

Скрининг культуры В-клеток по распознаванию антигена (твердофазный ИФА).

Для идентификации лунок, продуцирующих антитела против CGRP $\alpha$  человека, использовали тот же протокол, что описан для определения титра образцов сыворотки по распознаванию антигена (твердофазный ИФА), со следующими изменениями. Вкратце, планшеты, покрытые нейтравидином, покрывали смесью CGRP $\alpha$  человека, биотинилированного по N- и C-концу (50 мкл на лунку, по 1 мкг/мл каждого из них). Образцы супернатанта В-клеток (50 мкл) тестировали без предварительного разбавления.

Выявление функциональной активности в супернатантах В-клеток с использованием CGRP-

зависимой продукции цАМФ.

Для выявления функциональной активности в супернатантах В-клеток использовали процедуру, аналогичную описанной для определения функционального титра образцов сыворотки, со следующими изменениями. Вкратце, вместо разбавленных образцов поликлональной сыворотки использовали супернатант В-клеток (20 мкл).

Выделение антиген-специфических В-клеток.

Планшеты, содержавшие интересные лунки, извлекали из холодильника при  $-70^{\circ}\text{C}$ , клетки из каждой лунки восстанавливали путем пяти промывок 200 мкл среды (10% полная RPMI, 55 мкМ BME) на лунку. Восстановленные клетки осаждали центрифугированием, супернатант осторожно удаляли. Осажденные клетки ресуспендировали в 100 мкл среды. Для выявления клеток, экспрессирующих антигена, магнитные гранулы, покрытые стрептавидином (M280 Dynabeads, Invitrogen), покрывали комбинацией CGRP $\alpha$  человека, биотинилированного по N- и C-концу. Отдельные партии биотинилированного CGRP $\alpha$  человека оптимизировали путем последовательного разбавления. Затем 100 мкл, содержащие приблизительно  $4 \times 10^7$  покрытых гранул, смешивали с ресуспендированными клетками. К указанной смеси добавляли 15 мкл N&L IgG-FITC козы против антител кролика (Jackson ImmunoResearch), разбавленных средой 1:100.

20 мкл клеток/гранул/суспензии N&L против антител кролика удаляли и распределяли в виде 5-мкл капель по однолуночным предметным стеклам, предварительно обработанным Sigmacote (Sigma) в общей сложности от 35 до 40 капель на стекло. Для погружения капель использовали непроницаемый барьер из парафинового масла (JT Baker); стекло инкубировали в течение 90 мин в инкубаторе при  $37^{\circ}\text{C}$  и 4%  $\text{CO}_2$  в темноте.

Специфические В-клетки, продуцирующие антитела, можно было идентифицировать по флуоресцентному кольцу вокруг них, получаемому за счет секреции антител, распознавания биотинилированного антигена, связанного с гранулами, и последующего обнаружения с помощью реагента для флуоресцентного обнаружения IgG. После выявления клетки, представляющей интерес, ее извлекали с помощью микроманипулятора (Eppendorf). Одиночную клетку, синтезирующую и экспортирующую антитело, переносили в микроцентрифужную пробирку, замораживали с помощью сухого льда и хранили при  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Аmplификация и секвенирование последовательностей антител из антиген-специфических В-клеток.

Последовательности антител восстанавливали с помощью комбинированного способа на основе ОТ-ПЦР из одиночной выделенной В-клетки. Для отжига консервативных и константных областей генов иммуноглобулина-мишени (тяжелых и легких цепей), например последовательностей иммуноглобулинов кролика, разработали праймеры, содержащие сайты рестрикции; для амплификации последовательности антитела использовали восстановление на основе двухэтапной вложенной ПЦР. Ампликоны из каждой лунки анализировали на восстановление и целостность по размеру. Затем полученные фрагменты расщепляли с помощью AluI для фингерпринта клональных свойств последовательности. Идентичные последовательности демонстрировали общую картину фрагментации при электрофоретическом анализе. Затем исходные фрагменты ампликона тяжелой и легкой цепей расщепляли по сайтам рестрикции, содержащимся в праймерах для ПЦР, и клонировали в экспрессирующий вектор. Вектор, содержащий субклонированные фрагменты ДНК, амплифицировали и очищали. Последовательность субклонированных тяжелых и легких цепей проверяли до экспрессии.

Рекомбинантная продукция моноклонального антитела с желательной антигенной специфичностью и/или функциональными свойствами.

Для определения антигенной специфичности и функциональных свойств антител, восстановленных из специфических В-клеток, векторы, контролирующие экспрессию желательных последовательностей спаренных тяжелых и легких цепей, трансфицировали в клетки НЕК-293.

Распознавание антигена рекомбинантными антителами согласно твердофазному ИФА.

С целью оценки способности рекомбинантных экспрессируемых антител связываться с CGRP $\alpha$  человека растворы антител тестировали с помощью твердофазного ИФА. Все этапы инкубирования выполняли при комнатной температуре. Вкратце, планшеты Immulon IV (Thermo Scientific) покрывали раствором, содержащим CGRP $\alpha$  (1 мкг/мл в PBS) в течение 2 ч. Затем планшеты, покрытые CGRP $\alpha$ , трижды промывали буфером для промывки (PBS, 0,05% Твин-20). Затем планшеты блокировали с использованием блокирующего раствора (PBS, 0,5% желатина рыбьей кожи, 0,05% Твин-20) в течение приблизительно 1 ч. Затем удаляли блокирующий раствор и инкубировали планшеты с последовательными разведениями тестируемого антитела в течение приблизительно 1 ч. В конце указанного инкубирования планшет трижды промывали буфером для промывки и дополнительно инкубировали с раствором вторичного антитела (конъюгированный с пероксидазой и аффинно очищенный  $\text{F(ab')}_2$ -фрагмент антитела козы против IgG человека, специфичный по отношению к Fc-фрагменту (Jackson Immunoresearch) в течение приблизительно 45 мин и трижды промывали. В этот момент добавляли раствор субстрата (ТМВ-субстрат пероксидазы, BioFX) и инкубировали в течение 3-5 мин в темноте. Реакцию останавливали добавлением раствора HCl (0,5 M) и считывали планшет при 450 нм с использованием планшет-ридера.

Результаты.

Фиг. 15-18 демонстрируют, что антитела Ab1-Ab14 против CGRP связывались с CGRP $\alpha$  и распознавали его.

Оценка функциональных характеристик рекомбинантных антител путем модуляции CGRP-зависимых внутриклеточных уровней цАМФ и перекрестной реакционной способности с CGRP крысы.

Для оценки способности рекомбинантного экспрессируемого антитела ингибировать CGRP $\alpha$ -опосредованные повышенные клеточные уровни цАМФ использовали аналитический набор на основе электрохемилюминесценции (Meso Scale Discovery, MSD). Вкратце, препараты антител, подлежащие тестированию, последовательно разбавляли в буфере для анализа MSD (Hepes, MgCl<sub>2</sub>, pH 7,3, 1 мг/мл блокатора A, Meso Scale Discovery) в 96-луночном круглодонном полистирольном планшете (Costar). В указанный планшет добавляли CGRP $\alpha$  человека (конечная концентрация 25 нг/мл), разбавленный буфером для анализа MSD, и инкубировали в течение 1 ч при 37°C. Согласно указаниям изготовителя аналитического набора использовали соответствующие контроли. Клетки нейроэпителиомы человека (SK-N-MC, ATCC) отделяли с помощью раствора ЭДТА (5 мМ) и промывали ростовой средой (MEM, 10% FBS, антибиотики) посредством центрифугирования. Количество клеток доводили до 2 млн клеток на 1 мл в буфере для анализа и добавляли IBMX (3-изобутил-1-метилксантин, 50 мМ, Sigma) до конечной концентрации 0,2 мМ непосредственно перед загрузкой клеток в планшет для анализа цАМФ. Раствор антитела против CGRP $\alpha$  человека инкубировали в течение 1 ч, после чего 20 мкл раствора, содержащего клетки, переносили в планшет для анализа цАМФ. Все образцы тестировали в двух повторностях с соответствующими контролями. 10 мкл клеток добавляли в лунки и инкубировали планшет в течение 30 мин при встряхивании. Во время инкубирования клеток с раствором CGRP готовили стоп-раствор путем получения раствора TAG-меченого цАМФ (MSD) в лизирующем буфере (MSD) в разбавлении 1:200. Для остановки инкубирования клеток с CGRP к клеткам добавляли 20 мкл стоп-раствора и инкубировали планшет в течение 1 ч при встряхивании. Буфер для считывания (MSD) разбавляли в четыре раза водой и добавляли 100 мкл в каждую лунку планшета. Затем планшет считывали с помощью Sector Imager 2400 (MSD) и использовали программное обеспечение Prism для аппроксимации данных и определения IC<sub>50</sub>. Для проверки способности рекомбинантных антител противодействовать человеческому CGRP выполнили аналогичный анализ с замещением агониста CGRP (конечная концентрация CGRP 10 нг/мл). Оценка рекомбинантных антител по отношению к распознаванию и ингибированию синтеза цАМФ, опосредованного CGRP крысы, проводили с использованием CGRP крысы (конечная концентрация 5 нг/мл) и линии клеток крысы L6 (ATCC).

Результаты.

Фиг. 19-37 демонстрируют, что антитела Ab1-Ab14 против CGRP ингибировали повышенные уровни цАМФ в клетке, опосредованные CGRP $\alpha$ , CGRP и CGRP крысы.

Пример 2. Ферментативное получение Fab-фрагментов.

Гидролиз папаином проводили с использованием иммобилизованного папаина (Thermo/Pierce) в соответствии с инструкциями изготовителя. Вкратце, очищенные антитела инкубировали в цистеин/HCl-буфере с иммобилизованным папаином при 37°C и осторожном встряхивании. Гидролиз контролировали путем отбора аликвот и анализа отщепления тяжелой цепи с помощью электрофореза в ДСН-ПААГ. Для остановки реакции удаляли иммобилизованный папаин, смесь промывали с помощью 50 мМ Трис, pH 7,5 и фильтровали. Негидролизованное полноразмерное антитело и Fc-фрагменты удаляли с помощью колонки MabSelectSure (GE).

Пример 3. Экспрессия в дрожжевых клетках.

Конструирование экспрессирующих векторов *Pichia pastoris* для тяжелой и легкой цепей.

Фрагменты гуманизированной легкой и тяжелой цепей коммерчески синтезировали и субклонировали в экспрессирующем векторе рGAP. Экспрессирующий вектор рGAP использовал GAP-промотор для контроля экспрессии иммуноглобулиновой цепи и лидерную последовательность человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) для экспорта. Кроме того, указанный вектор содержал обычные элементы, например бактериальный сайт инициации репликации и копию гена устойчивости к канамицину, придававшего *P. pastoris* устойчивость к антибиотику G418. G418 обеспечивал средство отбора штаммов, содержащих желательный экспрессирующий вектор, интегрированный в их геном.

Трансформация экспрессирующих векторов в гаплоидные штаммы-хозяева *met1* и *lys3* *Pichia pastoris*.

Все способы, используемые для трансформации гаплоидных штаммов *P. pastoris* и манипуляции половым циклом *P. pastoris*, выполняли, как описано в *Pichia Protocols (Methods in Molecular Biology Higgings, D.R., and Cregg, J.M., Eds. 1998. Humana Press, Totowa, NJ)*. Перед трансформацией каждый вектор переводили в линейную форму в пределах последовательностей GAP-промотора для стимуляции интеграции вектора в локус GAP-промотора генома *P. pastoris*. Гаплоидные штаммы трансфицировали с помощью электропорации и отбирали успешные трансформанты на чашках с YPDS (дрожжевой экстракт, пептон, декстроза с сорбитом) агаром с G418. Количество копий генов тяжелых и легких цепей определяли в гаплоидных штаммах с помощью саузерн-блоттинга. Затем скрещивали гаплоидные штаммы и осуществляли отбор по способности расти в отсутствие маркеров аминокислот (т.е. Lys и Met). Затем

полученные диплоидные клоны подвергали окончательному саузерн-блоттингу для подтверждения количества копий генов тяжелых и легких цепей. Клон, экспрессировавший интересующее антитело, выбрали с помощью биосенсоров на основе белка А, использующих интерферометрию в биослое для контроля экспрессии (Octet, ForteBio).

Пример 4. Экспрессия Ab3, Ab6 и Ab14 в *Pichia pastoris*.

Для экспрессии полноразмерного антитела сконструировали три штамма *Pichia*. Для всех штаммов, экспрессирующих полноразмерное антитело, создали гаплоидные штаммы, а затем выполнили их скрещивание. Один гаплоидный штамм экспрессировал полноразмерную последовательность легкой цепи, а другой гаплоидный штамм экспрессировал полноразмерную последовательность тяжелой цепи. Каждый диплоидный штамм использовали для получения исследовательского банка клеток и для экспрессии в биореакторе.

Вначале размножали инокулят с помощью исследовательского банка клеток в среде, состоящей из следующих питательных веществ (% , мас./об.): дрожжевой экстракт 3%, безводная декстроза 4%, YNB 1,34%, биотин 0,004% и 100 мМ фосфат калия. Для получения инокулята для ферментеров банк клеток размножали приблизительно в течение 24 ч в инкубаторе с качалкой при 30°C и 300 об/мин. Затем 10% инокулят добавляли в резервуары Labfors с рабочим объемом 2,5 л, содержащие 1 л стерильной ростовой среды. Ростовая среда состояла из следующих питательных веществ: сульфат калия 18,2 г/л, одноосновный фосфат аммония 36,4 г/л, двухосновный фосфат калия 12,8 г/л, гептагидрат сульфата магния 3,72 г/л, дигидрат цитрата натрия 10 г/л, глицерин 40 г/л, дрожжевой экстракт 30 г/л, микроэлементы РТМ1 4,35 мл/л и пеногаситель antifoam 204 1,67 мл/л. Раствор микроэлементов РТМ1 состоял из следующих компонентов: пентагидрат сульфата меди 6 г/л, иодид натрия 0,08 г/л, гидрат сульфата марганца 3 г/л, дигидрат молибдата натрия 0,2 г/л, борная кислота 0,02 г/л, хлорид кобальта 0,5 г/л, хлорид цинка 20 г/л, гептагидрат сульфата железа(II) 65 г/л, биотин 0,2 г/л и серная кислота 5 мл/л.

Параметры управления процессом в биореакторе устанавливали следующим образом: перемешивание 1000 об/мин, воздушный поток 1,35 стандартных литров в минуту, температура 28°C, pH поддерживали на уровне шести с помощью гидроксида аммония. Дополнительную подачу кислорода не осуществляли.

Культуры для ферментации выращивали в течение приблизительно 12-16 ч до израсходования исходного глицерина, на что указывал пик концентрации растворенного кислорода. Культуры поддерживали без источника углерода в течение приблизительно 3 ч после пика растворенного кислорода. После указанного периода голодания в реактор добавляли боллус этанола из расчета конечной концентрации этанола 1% (мас./об.). Культуры для ферментации оставляли уравниваться в течение 15-30 мин. Подачу питательной среды начинали через 30 мин после боллусного добавления этанола и устанавливали на постоянной скорости 1 мл/мин на 40 мин, затем насос среды контролировали с помощью датчика этанола, поддерживая концентрацию этанола 1% в течение оставшегося времени, с использованием датчика-зонда этанола (Raven Biotech). Питательная среда состояла из следующих компонентов: дрожжевой экстракт 50 г/л, глюкоза 500 г/л, гептагидрат сульфата магния 3 г/л и микроэлементы РТМ1 12 мл/л. Для получения полноразмерных Ab6 и Ab14 в питательную среду также добавляли дигидрат цитрата натрия (0,5 г/л). Общее время ферментации составляло приблизительно 90 ч.

Пример 5. Способы гуманизации антител.

Способы гуманизации антител были описаны ранее в опубликованном патенте США № 7935340, раскрытие которого полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых случаях требовалось определение необходимости дополнительных остатков каркасных областей кролика для поддержания активности. В некоторых случаях для минимизации потерь сродства или активности гуманизованных антител требовалось сохранить некоторые критические остатки каркасных областей кролика. В этих случаях для получения желательной активности было необходимо вновь заменить одну или несколько аминокислот каркасной области из последовательностей эмбрионального типа человека на исходные аминокислоты кролика. Указанные изменения определяли экспериментально с целью идентификации остатков последовательности кролика, необходимых для сохранения сродства и активности. Они располагались в конце гуманизованной аминокислотной последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепей.

Пример 6. Ингибирование связывания CGRP с его клеточным рецептором.

Для оценки способности рекомбинантно экспрессируемых антител ингибировать связывание CGRP с его клеточным рецептором выполняли анализ связывания радиоактивного лиганда, как описано ранее [Elshourbagy et al., *Endocrinology* 139:1678 (1998); Zimmerman et al., *Peptides*, 16:421 (1995)]. Использовали мембранные препараты рекомбинантных рецепторов CGRP человека, рецептора, подобного рецептору кальцитонина, и RAMP1 (Chemiscreen, Millipore). Разбавления антител предварительно инкубировали с CGRPα человека, меченным <sup>125</sup>I (0,03 нМ) в течение 30 мин при комнатной температуре. Неспецифическое связывание оценивали в присутствии 0,1 мкМ CGRPα человека. Мембраны фильтровали и промывали. Затем выполняли подсчет частиц на фильтрах для определения специфически связанного CGRPα человека, меченного <sup>125</sup>I.

#### Результаты.

Фиг. 38 демонстрирует, что антитела Ab1-Ab13 против CGRP ингибировали связывание CGRP с его клеточным рецептором.

Пример 7. Ингибирование нейрогенного расширения сосудов антителами против CGRP у крыс.

CGRP является мощным сосудорасширяющим фактором (Nature 313: 54-56 (1985) и Br J. Clin. Pharmacol. 26(6):691-5 (1988)). Для оценки антител против CGRP использовали фармакодинамический анализ для неинвазивного измерения активности, антагонистической рецептору CGRP. Данная модель основана на изменениях в кожном кровотоке, измеряемых с помощью лазерной доплеровской визуализации после наружного применения раствора капсаицина. Капсаицин активирует транзитный рецепторный потенциал рецептора ваниллоидов 1 типа (TRPV-1), приводя к нейрогенному воспалению и расширению сосудов за счет локального высвобождения вазоактивных медиаторов, включая CGRP и вещество P (Br. J. Pharmacol. 110: 772-776 (1993)).

На день до анализа расширения сосудов животным в/б (внутрибрюшинно) вводили тестируемый агент или контроль. После введения дозы животных брили и депилировали в области поясницы со стороны спины на площади приблизительно 2×6 см. Затем животных возвращали в клетки на ночь. В день анализа, приблизительно через 24 ч после введения дозы, животных анестезировали газообразным изофлураном, помещали на термостатируемую грелку-матрац и оснащали носовым конусом для непрерывной доставки изофлурана. Для наблюдения за расширением сосудов использовали лазерный доплеровский тепловизор. Пучок когерентного красного света, генерируемого 633-нм гелий-неоновым лазером, направляли на выбритую прямоугольную область площадью 2×6 см и сканировали в режиме среднего разрешения. Вначале получали исходную доплеровскую сканограмму и заранее определяли расположение размещения O-кольца путем выявления двух областей с одинаково низким потоком. На выбранные области помещали два резиновых O-кольца (диаметром ~1 см) и выполняли исходное сканирование. Непосредственно после завершения сканирования в области каждого из двух O-колец наносили 1 мг капсаицина в 5 мкл раствора этанол:ацетон (1:1). Доплеровское сканирование повторяли через 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5; 20; 22,5; 25; 27,5 и 30 мин после нанесения капсаицина. Процентное изменение по сравнению с исходным средним потоком в каждом из двух уплотнительных колец наносили на график результатов расширения сосудов, обусловленного капсаицином. Для тестирования способности рекомбинантно экспрессируемых антител ингибировать связывание CGRP с его клеточным рецептором выполняли анализ связывания радиоактивного лиганда, как описано ранее.

#### Результаты.

Фиг. 39 и 40 демонстрируют, что антитела Ab3 и Ab6 против CGRP снижали расширение сосудов в указанной модели после введения капсаицина.

Пример 8. Ингибирование отвращения к свету или светобоязни за счет системной (в/б) инъекции антитела против CGRP мышам, трансгенным по нестину/Ramp1.

Как обсуждалось выше, одним из признаков мигрени является светобоязнь или повышенная чувствительность к свету [Mulleners et al., Headache 41: 31-39 (2001); Recober et al., J. Neuroscience 29:8798:8804 (2009)]. Кроме того, известно, что люди, страдающие мигренью, в отличие от людей, не страдающих мигренью, чувствительны к CGRP-индуцированной головной боли [обзор в Neurology 22:241-246 (2009)]. CGRP связывается с рецептором, сопряженным с G-белком, под названием CLR (кальцитонин-подобный рецептор), который действует одновременно с белком 1, модифицирующим активность рецептора (RAMP1), при опосредовании связывания и сигнального пути CGRP. Активность CGRP *in vitro* сильно повышалась за счет сверхэкспрессии субъединицы RAMP1 рецептора CGRP [(J. Neurosci. 27:2693-2703 (2007)]. Для изучения поведения, связанного с отвращением к свету у мышей, разработали модель трансгенной мыши нестин/RAMP1 человека [Recober et al., J. Neuroscience 29: 8798-8804 (2009); Russo et al., Mol. Cell. Pharmacol., 1:264-270 (2009)]. У указанных мышей при воздействии CGRP присутствовали симптомы, связанные с мигренью, в частности отвращение к свету (там же). Данный протокол подробно описан ниже.

Для тестирования способности антител против CGRP блокировать CGRP-индуцированное отвращение к свету или светобоязнь мышей содержали в стандартных условиях в группах по 2-5 мышей на клетку при 12-часовом световом цикле (свет включали в 5:00 CST)/6:00 CDT и выключали в 17:00 CST/18:00 CDT) и неограниченном доступе к воде и пище. Мыши, используемые в исследованиях, состояли из колоний мышей генотипа нестин/hRAMP1, содержавших два трансгенных аллеля Tg(Nes-cre)1Kln/J и Tg(RAMP1) (B6; SJL-Tg(Nes-cre)1Kln Tg(RAMP1). Nes-cre внедряли в генотип указанных мышей с помощью интеркросса с участием мышей, полученных из The Jackson Laboratory (номенклатурный номер 003771) биологической продуктивности мышей на генетическом фоне B6.

Контрольные мыши, используемые в протоколе, являлись одноплетными нетрансгенными мышами или трансгенными по одному гену (не экспрессирующими hRAMP1) мышами, содержащими один из трансгенов: нестин-cre или Cx1-GFP-hRAMP1. Исходную колонию поддерживали путем обратного скрещивания мышей CX1-GFP-hRAMP1 с нетрансгенными одноплетными мышами в барьерном помещении. Для изучения поведения колонию поддерживали путем скрещивания мышей CX1-GFP-hRAMP1,

трансгенных по одному гену, с мышами нестин-сге в небарьерных помещениях. Всех указанных мышей содержали в соответствии с правилами ухода за животными и процедурами, принятыми в комитете по уходу и использованию животных университета штата Айова и, кроме того, в соответствии со стандартом, установленным Национальным институтом здравоохранения США.

Материалы и оборудование, использованные в настоящем протоколе, включали освещенную/темную камеру и камеры для тестирования, содержавшие открытое поле из оргстекла (27×27×20,3 см), содержащее 16-лучевую ИК-матрицу (Med Associates, Inc, Сент-Олбанс, штат Вермонт, США). Освещенная/темная камера была разделена на две равные по размеру зоны темной вставкой, непрозрачной для видимого света. В темной вставке было отверстие (5,2×6,8 см), позволявшее мышам свободно перемещаться между двумя зонами. Указанную камеру для тестирования помещали в звукоизолированный отсек (56×38×36 см) с вентилятором для вентиляции (Med Associates Inc.). Общая система включала шесть камер и компьютерное программное обеспечение для записи и сбора данных (Med Associates Inc.).

Программное обеспечение, используемое для мониторинга результатов, являлось Activity Monitor версии 6.02 (Med Associates Inc.) Настройки программного обеспечения для регистрации включали разрешение (мс): 50, размер камеры: 3, выдержку (мс): 500, амбулаторный триггер: 3, тип сессии: С, время сессии (мин): 20, интервал блока (с): 300 и сжатый файл: DEFAULT.ZIP.

В данном протоколе источник света для каждой камеры являлся светодиодной панелью, установленной на потолке звукоизолированного отсека. Светодиодная панель содержала 36 коллимированных 1-ваттных светодиодных ламп (белый дневной свет 5500к) (LEDwholesalers, Берлингем, штат Калифорния, США). Для контроля интенсивности света каждую светодиодную панель подключали к светодиодному трансформатору с регулируемой яркостью (LINEARdrive; eldoLED America Inc., Сан-Хосе, штат Калифорния, США), что приводило к потенциальному диапазону интенсивности света от ~300 до 27000 лк. Стандартная интенсивность света составляла ~1000-1200 лк, если не указано иное. В альтернативном случае более низкие интенсивности света достигались с помощью слоев вошеной бумаги, фильтрующих свет, что приводило к интенсивности ~55 лк.

Используемые инъекторы изготавливали вручную, вставляя зачищенную иглу 30 калибра× $\frac{1}{2}$ " в радиопрозрачную полиэтиленовую трубку (внутренний диаметр 0,38 мм; наружный диаметр 1,09 мм). При использовании трубки, описанной выше, над иглой располагали пробку (~1 см в длину), оставляя примерно 2,5 мм скоса непокрытым. Указанные инъекторы подсоединяли к 10-мкл шприцу Hamilton.

Мышам вводили  $\alpha$ -CGRP крысы (Sigma), разбавленный фосфатно-солевым буфером по Дульбекко (D-PBS) (HyClone). Общая доставляемая доза составила 0,5 нмоль. Например, 250 или 500 мкг CGRP разбавляли 250 или 500 мкл стерильного PBS до конечной концентрации 1 мкг/мкл. CGRP хранили при -20°C, аликвоты замораживали и размораживали не более одного раза. PBS хранили при 4°C.

Мышам вводили одно из антител против CGRP, раскрытых здесь (Ab3), среду-носитель или контрольное антитело, которые хранили до введения при 4°C. В данном протоколе до введения CGRP, т.е. приблизительно за 24 ч до тестирования, мышам взвешивали и затем вводили внутрибрюшинную (в/б) инъекцию среды-носителя, контрольного антитела или CGRP-связывающего антитела в дозировке 30 мг/кг. Кроме того, мышам подвергали скринингу для обнаружения аномальных физических состояний, способных повлиять на анализ, например отсутствия глаз, катаракты или других нарушений, например ухода за шерстью и т.д. На следующий день после введения антитела мышам транспортировали в клетках из помещения для содержания животных на тележке, а затем помещали в комнату для исследования поведения для акклиматизации по меньшей мере за 1 ч до инъекции или тестирования. Любые покрытия, необходимые для транспортировки, удаляли с клеток, во время акклиматизации включали нормальное освещение (стандартное потолочное люминесцентное освещение) и оставляли его включенным в течение оставшейся части процедуры. Кроме того, все оборудование, издающее звуки, в том числе обезболивающие устройства, освещенные/темные камеры и светодиодные панели, включали во время акклиматизации и оставляли до завершения тестирования. Обычно во время акклиматизации было минимальное присутствие людей в комнате.

После акклиматизации каждую мышь помещали в индукционную камеру и вводили 3,5% изофлуран. После анестезии мышь переводили на подачу 3,5% изофлурана через нос, так что она оставалась под наркозом во время инъекции. После введения препарата с использованием инъектора путем прямой инъекции в правый латеральный желудочек через неповрежденную кожу головы на 1 мм кзади от темени и 1 мм справа от средней линии.

Обычно для обеспечения согласованности все инъекции выполнял один и тот же сотрудник после периода обучения, обеспечивавшего частоту успешной операции > 90% согласно демонстрации с помощью инъекций красителя в желудочки. Вводимые препараты являлись 2,0 мкл среды-носителя (D-PBS) или 2,0 мкг CGRP в 2,0 мкл среды-носителя (1 мкг/мкл); введение осуществляли в виде прямой интрацеребровентрикулярной инъекции в правый латеральный желудочек головного мозга через неповрежденную кожу головы на 1 мм кзади от темени и 1 мм справа от средней линии, как описано выше [Resober et al., J. Neuroscience 29: 8798-8804 (2009)]. После завершения доставки 2,0 мкл иглу оставляли на месте в течение 10 с, а затем удаляли. Затем записывали время введения.

После инъекции мышам позволяли восстановиться в течение 30 мин перед тестированием в пустой, непокрытой клетке, содержащей бумажную салфетку в качестве подстилки. Во время восстановления регистрировали следующие явления: диарею, чрезмерное мочеиспускание, кровотечение после инъекции, аномальное поведение, например отсутствие движения, судороги и т.д. После 30-минутного восстановления осуществляли тестирование. Каждую мышь помещали вдоль задней стенки (самой дальней от отверстия между двумя зонами) в освещенной зоне примерно в центре. Данное действие вызывало начало регистрации. Одновременно тестировали до шести мышей (одну мышь на камеру). Во время тестирования стеллаж с камерой задвигали в шкаф и закрывали дверь. Программное обеспечение регистрировало движения мыши в течение 20 мин. После завершения регистрации каждую мышь удаляли из камеры и вновь помещали в домашнюю клетку для транспортировки обратно в виварий.

Результаты.

Используя указанный протокол, протестировали антитело против CGRP, разработанное Alder Pharmaceuticals (Ab3), с целью определения его потенциальной пригодности для лечения мигрени, особенно хронической мигрени у человека, и, конкретнее, для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной светобоязни. Результаты указанных исследований показаны на фиг. 41 и 42. Фиг. 41 содержит данные сравнения действия ICV-инъекции CGRP у мышей, трансгенных по hRAMP1, и контрольных однопометных мышей. Данные показывают, что введение CGRP приводило к снижению времени светового поведения у трансгенных по hRAMP1 мышей по сравнению с однопометными контрольными особями.

Фиг. 42 содержит данные сравнения действия системной (в/б) инъекции антитела против CGRP (Ab3) в среде-носителе, только среды-носителя и контрольного антитела в среде-носителе мышам нестин/RAMP1, которым внутривенно вводили указанные вещества в дозе 30 мг/кг приблизительно за 24 ч до введения CGRP. Данные в левой части графика представляют общее время на свету (в секундах) в течение первых 10 мин, а данные на правой стороне графика представляют общее время на свету (в секундах), измеренное в течение первых 20 мин после инъекции CGRP (ICV), и в периоде восстановления. Интенсивность света в освещенной зоне составляла примерно  $1 \times 10^3$  лк. Данные показывают, что мыши, получавшие антитело против CGRP Ab3 согласно настоящему изобретению, характеризовались статистически значимым увеличением времени, проводимого на свету, по сравнению с мышами, получавшими контроли.

Указанные результаты означают, что Ab3 ингибировало CGRP-ассоциированную светобоязнь или отвращение к свету и должно быть пригодно для лечения мигрени или других расстройств, сопровождающихся светобоязнью, особенно светобоязнью, связанной с CGRP. На основании этого предполагается, что другие антитела против CGRP, включая другие антитела, раскрытые здесь, могут вести себя аналогично. Указанные результаты также означают, что рассматриваемый анализ поведения, связанного с отвращением к свету, можно применять для оценки потенциальной терапевтической эффективности (способности противодействовать эффектам CGRP *in vivo*) кандидатов-антител и фрагментов антител против CGRP. Неожиданным и непредвиденным оказалось то, что крупный полипептид, например антитело против CGRP, проходил через гематоэнцефалический барьер и ингибировал светобоязнь или отвращение к свету.

Результаты показывают, что избыток CGRP, который вызывает поведение, связанное с отвращением к свету, у мышей, уменьшался при системном введении антитела против CGRP, что указывает на способность указанного антитела связывать достаточное количество циркулирующего CGRP для противодействия поведению, связанному с отвращением к свету. Указанные результаты показывают, что указанное антитело против CGRP могло проходить через гематоэнцефалический барьер и тем самым ингибировать неврологические эффекты CGRP, в частности светобоязнь и боль, связанные с мигренью. Указанные результаты являются первой демонстрацией того, что рассматриваемый анализ поведения животного, связанного с отвращением к свету, можно применять для оценки терапевтической эффективности полипептида, например антитела или фрагмента антитела против CGRP. Кроме того, указанные результаты показывают, что указанная животная модель потенциально пригодна для определения эффективной дозировки кандидата-антитела или фрагмента антитела против CGRP, эффективных способов введения, а также подходящей схемы приема.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ ингибирования светобоязни или отвращения к свету или предотвращения возникновения светобоязни или отвращения к свету у субъекта, включающий введение эффективного количества антитела или фрагмента антитела против пептида, связанного с геном кальцитонина человека (CGRP), включающих варируемую область легкой цепи ( $V_L$ ), включающую CDR1 последовательности SEQ ID NO: 55, CDR2 последовательности SEQ ID NO: 56 и CDR3 последовательности SEQ ID NO: 57, и варируемую область тяжелой цепи ( $V_H$ ), включающую CDR1 последовательности SEQ ID NO: 58, CDR2 последовательности SEQ ID NO: 59 и CDR3 последовательности SEQ ID NO: 60.

2. Способ по п.1, где светобоязнь или отвращение к свету вызвано мигренью, головной болью, при-

ливами, хронической пароксизмальной гемикранией или черепной невралгией.

3. Способ по п.2, где мигрень выбрана из одной или нескольких из: хронической мигрени, гемиплегической мигрени, мигренозной невралгии, менопаузальной мигрени, менструальной мигрени, мигренозной головной боли, мигрени без головных болей, мигрени с тошнотой и рвотой, мигрени с аурой и мигрени без ауры.

4. Способ по п.2, где головная боль выбрана из одной или нескольких из: кластерных головных болей, хронических головных болей, головных болей напряжения, общей головной боли, вторичных головных болей вследствие лежащей в основе структуральной проблемы в области головы или шеи, синусных головных болей и головных болей, вызванных аллергией.

5. Способ по п.1, где светобоязнь или отвращение к свету вызвано одним из нескольких из следующего: ахроматопсии, аниридии, светобоязни, вызванной антихолинэргическим препаратом, афакии, буфтальма, колбочковой дегенерации, врожденных аномалий глаза, вирусного конъюнктивита, истирания роговицы, дистрофии роговицы, язвы роговицы, нарушения эпителия роговицы, эктопии хрусталика, эндофтальмита, травмы глаз, вызванной заболеванием, повреждением или инфекцией, например халазионом, эписклеритом, глаукомой, кератоконусом, гипоплазией зрительного нерва, гидрофтальма, врожденной глаукомы, ирита, неврита зрительного нерва, синдрома диспергирования пигмента, расширения зрачков (естественного или химически индуцированного), отслоения сетчатки, рубцов роговицы или склеры, увеита, менингита, депрессии, биполярного расстройства, тройничной вегетативной цефалгии или блефароспазма и агорафобии.

6. Способ по п.3, где светобоязнь или отвращение к свету вызвано мигренозной головной болью.

7. Способ по п.1, где светобоязнь или отвращение к свету вызвано неврологическим состоянием, характеризующимся повышенными уровнями CGRP.

8. Способ по любому из пп.1-6, где указанный фрагмент антитела выбран из Fab-фрагмента, Fab'-фрагмента или F(ab')<sub>2</sub>-фрагмента.

9. Способ по п.8, где указанный фрагмент является Fab-фрагментом.

10. Способ по любому одному из пп.1-6, где указанное антитело или фрагмент антитела является гуманизированным антителом, одноцепочечным антителом или химерным антителом.

11. Способ по любому одному из пп.1-6, где указанное антитело или фрагмент антитела специфически связывается с CGRP-экспрессирующими клетками человека и/или циркулирующими растворимыми молекулами CGRP *in vivo*.

12. Способ по любому одному из пп.1-6, где указанное антитело или фрагмент антитела включают V<sub>H</sub>-полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 53, и V<sub>L</sub>-полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 51.

13. Способ по п.10, где указанное антитело или фрагмент антитела является гуманизированным.

14. Способ по п.10, где указанное антитело или фрагмент антитела является химерным.

15. Способ по п.10, где указанное антитело является одноцепочечным антителом.

16. Способ по п.14, где указанное химерное антитело включает Fc человека.

17. Способ по п.16, где указанный Fc человека происходит от IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

18. Способ по любому одному из пп.1-6, где указанное антитело или фрагмент антитела ингибирует связывание CGRP с CGRP-R и/или его мултимерами, одним или более дополнительными белками в комплексе CGRP-CGRP-R и/или оказывает антагонистическое действие на их биологические эффекты.

19. Способ по п.11, где указанное антитело или фрагмент антитела связывается с CGRP со скоростью диссоциации ( $K_{off}$ ), меньшей или равной  $10^{-4} \text{ c}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ ,  $10^{-5} \text{ c}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-6} \text{ c}^{-1}$ ,  $10^{-6} \text{ c}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-7} \text{ c}^{-1}$  или  $10^{-7} \text{ c}^{-1}$ .

20. Способ по п.18, где указанное антитело или фрагмент антитела ингибирует связывание CGRP с CGRP-R.

21. Способ по любому из пп.1-6, где указанное антитело или фрагмент антитела вводят внутримышечно, подкожно, внутривенно, ректально, путем инфузии, перорально, трансдермально или путем ингаляции.

22. Способ по п.21, где указанное антитело или фрагмент антитела вводят внутривенно.

23. Способ по любому из пп.1-6, где указанный фрагмент антитела является scFv, камелизированным антителом, нанотелом, IgNAR (одноцепочечным антителом, происходящим из организма акул).

24. Способ по любому из пп.1-6, где указанное антитело или фрагмент антитела включают полипептидную последовательность V<sub>L</sub> цепи SEQ ID NO: 51 и полипептидную последовательность V<sub>H</sub> цепи SEQ ID NO: 53.

25. Способ по любому из пп.1-6, где указанное антитело или фрагмент антитела включает полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 52 и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 54.

26. Способ по п.12, где указанное антитело или фрагмент антитела включает полипептидную последовательность V<sub>L</sub> цепи, которая обладает по меньшей мере 95%-ной идентичностью полипептидной последовательности V<sub>L</sub> цепи SEQ ID NO: 51, и полипептидную последовательность V<sub>H</sub> цепи, которая

обладает по меньшей мере 95%-ной идентичностью полипептидной последовательности V<sub>H</sub> цепи SEQ ID NO: 53.

27. Способ по любому из пп.1-6, где указанное антитело или фрагмент антитела против CGRP содержит Fc-область, содержащую мутацию, изменяющую или полностью элиминирующую гликозилирование или снижающую или элиминирующую N-гликозилирование.

28. Способ по любому одному из пп.1-6, который дополнительно включает введение по меньшей мере одного из бета-блокатора, флунаризина, вальпроевой кислоты, топирамата, амитриптилина, венлафаксина, габапентина, корня белокочытника, витамина B2 и магния.

29. Способ по любому одному из пп.1-6, который дополнительно включает введение по меньшей мере одного дополнительного активного агента, отличного от анти-CGRP антитела или его фрагмента, и выбранного из анальгетиков, антигистаминных средств, антипиретиков, противовоспалительных средств, антибиотиков, противовирусных средств и антагонистов цитокинов.

30. Способ по п.29, который дополнительно включает введение активного обезболивающего агента, выбранного из дигидроэрготамина, опиоидов, 2-арилпропионовой кислоты, ацеклофенака, ацетамидина, ацетилсалициловой кислоты (аспирина), алклофенака, альминопрофена, амоксицирина, ампирина, арилалкановой кислоты, азапропазона, бенорилата, беноксапрофена, бромфенака, карпрофена, цецекоксиба, холинсалицилата магния, клофезона, ингибиторов СОХ-2, дексипрофена, декскетопрофена, диклофенака, дифлунизала, дроксикама, этензамида, этодолака, эторикоксиба, физаламина, фенамовой кислоты, фенбуфена, фенпрофена, флуфенамовой кислоты, флуноксапрофена, флурбипрофена, ибупрофена, ибупроксама, индометацина, индопрофена, кебузона, кетопрофена, кеторолака, лорноксикама, локсопрофена, люмиракоксиба, магния салицилата, меклофенамовой кислоты, мефенамовой кислоты, мелоксикама, метамизола, метилсалицилата, мофебутазона, набуметона, напроксена, N-арилантраниловой кислоты, фактора роста нервов (NGF), оксаметацина, оксапрозина, оксикама, оксифенбутазона, парекоксиба, феназона, фенилбутазона, пироксикама, пирпрофена, профена, проглуметацина, производных пиразолидина, рофекоксиба, салицилсалицилата, салициламида, салицилатов, вещества Р, сульфипиразона, сулиндака, супрофена, теноксикама, тиaproфеновой кислоты, толфенамовой кислоты, толметина и вальдекоксиба.

31. Способ по п.29, который дополнительно включает введение антигистаминного активного агента, выбранного из акривастина, астемизола, азатадина, азеластина, бетатастина, бромфенирамина, буклизина, цетиризина, аналогов цетиризина, хлорфенирамина, клемастина, CS 560, ципрогептадина, дезлоратадина, дексхлорфенирамина, эбастина, эпинастина, фексофенадина, HSR 609, гидроксизина, левокабастина, лоратидина, метскополамина, мизоластина, норастемизола, фениндамина, прометазина, пириламидина, терфенадина и траниласта.

32. Способ по п.29, который дополнительно включает введение активного агента-антибиотика, выбранного из амикацина, аминогликозидов, амоксициллина, ампициллина, ансамицинов, арсфенамина, азитромицина, азлоциллина, азтреонама, бацитрацина, карбацефема, карбапенемов, карбенициллина, цефаклора, цефадроксила, цефалексина, цефалотина, цефамандола, цефазолина, цефдинира, цефдиторена, цефепима, цефиксима, цефоперазона, цефотаксима, цефокситина, цефподоксима, цефпрозила, цефтазидима, цефтибутена, цефтизоксима, цефтобипрола, цефтриаксона, цефуроксима, цефалоспоринов, клорамфеникола, циластатина, ципрофлоксацина, кларитромицина, клиндамицина, клоксациллина, колистина, ко-тримоксазола, далфопристина, демеклоциклина, диклоксациллина, диритромицина, дорипенема, доксициклина, эноксацина, эртапенема, эритромицина, этамбутола, флуклоксациллина, фосфомицина, фуразолидона, фузидиевой кислоты, гатифлоксацина, гелданамицина, гентамицина, гликопептидов, гербимицина, имипенема, изониазида, канамицина, левофлоксацина, линкомицина, линезолида, ломефлоксацина, лоракарбефа, макролидов, мафенида, меропенема, метициллина, метронидазола, мезлоциллина, миноциклина, монобактамов, моксифлоксацина, мупироцина, нафциллина, неомицина, нетилмицина, нитрофурантоина, норфлоксацина, офлоксацина, оксациллина, окситетрациклина, паромомицина, пенициллина, пенициллинов, пиперациллина, платензимицина, полимиксина В, полипептидов, пронтозила, пиразинамида, хинолонов, хинупристина, рифампицина, рифампина, рокситромицина, спектиномицина, стрептомицина, сульфацида, сульфаметизола, сульфаниламида, сульфасалазина, сульфисоксазола, сульфонамидов, тейкопланина, телитромицина, тетрациклина, тетрациклинов, тикарциллина, тинидазола, тобрамицина, триметоприма, триметоприм-сульфаметоксазола, тролеандомицина, тровафлоксацина и ванкомицина.

33. Способ по любому из пп.1-6, который дополнительно включает введение активного агента, выбранного из альдостерона, беклометазона, бетаметазона, кортикостероидов, кортизола, кортизона ацетата, дезоксикортикостерона ацетата, дексаметазона, флуорокортизона ацетата, глюкокортикоидов, гидрокортизона, метилпреднизолона, преднизолона, преднизона, стероидов и триамцинолона или их комбинации.

34. Способ по любому из пп.1-6, который дополнительно включает введение активного агента, выбранного из кофеина, триптанов, анти-миметиков или их комбинации.

35. Способ по п.34, где триптан является эрготамином.

36. Способ по п.34, где анти-миметик является метоклопрамидом.











**Ab6**

**Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab6, продуцированная в дрожжевой клетке (гуманизированная).**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDLSGYMNWVRQAPGKLEWVGVINGATYYASWAKGRFTISRDNKSTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVYSWNSGGALTSVGHTEPAVLQSSGLYSLSSVYTPSSSLGFTQYICNVNHHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITL MISRTPPEVTVVYDVSHPEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDIDLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGPFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 54)

**Белковая последовательность вариательной области тяжелой цепи Ab6 (гуманизированная).**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDLSGYMNWVRQAPGKLEWVGVINGATYYASWAKGRFTISRDNKSTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 53)

**Белковая последовательность вариательной области тяжелой цепи Ab6 (гуманизированная). CDR1: полукирпичный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDLSGYMNWVRQAPGKLEWVGVINGATYYASWAKGRFTISRDNKSTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NOS: 58, 59, 60, соответственно)

**Последовательность ДНК вариательной области тяжелой цепи Ab6 (гуманизированная). CDR1: полукирпичный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGACGTCCTGGAA TCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACCTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCAATGGT ATTAATGGTGGCCACATACTACCGGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATCCAAAGACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGTAGAGGGGACATCTGGGCCAAGGGA CCGTCTGACCGGCTGACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCAGGACICTACTCCCTCAGCAGCGGTGTGACCGTGGCC TCCAGCAGCTGGGCAACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAGCCAGCAACCAAGTGGACGGGAGAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCTGTCAGCAGCCTGAACCTCTGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCGCCAAACCAAGGACACCTCAATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTGAGCCA CGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGGTGGAGGTGCAATAATGCCAAGACAAGGCCGCGGGAGG AGCAGTACGCCAGCAGTACCGTGTGGTACCGTCTCACCGTCTGCAACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA AGTGAAGGTCTCCAAACAGCCCTCCAGCCCTATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAAC CACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCCTGGTCAAGGCT CTATCCAGCAGCATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGACGGGAGAAACAATCAAGACCACGCTCCCGTGTG TGGACTCCGACGGCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTCTCT ATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACAACTACACCGAGAAGAGCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATGA (SEQ ID NO: 194)

**Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab6, продуцированная в дрожжевой клетке (гуманизированная).**

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGACGTCCTGGAA TCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACCTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCAATGGT ATTAATGGTGGCCACATACTACCGGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATCCAAAGACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGTAGAGGGGACATCTGGGCCAAGGGA CCGTCTGACCGGCTGACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCAGGACICTACTCCCTCAGCAGCGGTGTGACCGTGGCC TCCAGCAGCTGGGCAACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAGCCAGCAACCAAGTGGACGGGAGAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCTGTCAGCAGCCTGAACCTCTGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCGCCAAACCAAGGACACCTCAATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTGAGCCA CGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGGTGGAGGTGCAATAATGCCAAGACAAGGCCGCGGGAGG AGCAGTACGCCAGCAGTACCGTGTGGTACCGTCTCACCGTCTGCAACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA AGTGAAGGTCTCCAAACAGCCCTCCAGCCCTATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAAC CACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCCTGGTCAAGGCT CTATCCAGCAGCATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGACGGGAGAAACAATCAAGACCACGCTCCCGTGTG TGGACTCCGACGGCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTCTCT ATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACAACTACACCGAGAAGAGCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATGA (SEQ ID NO: 194)

**Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab6 (гуманизированная).**

QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCQASQSVYHNTYLA WYQOKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSDFTLTISLQPED VATYUCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVYCLINFFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEIKHYVAAEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 52)

**Белковая последовательность вариательной области легкой цепи Ab6 (гуманизированная).**

QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCQASQSVYHNTYLA WYQOKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSDFTLTISLQPED VATYUCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 51)

**Белковая последовательность вариательной области легкой цепи Ab6 (гуманизированная). CDR1: полукирпичный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCQASQSVYHNTYLA WYQOKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSDFTLTISLQPED VATYUCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NOS: 55, 56, 57, соответственно)

**Последовательность ДНК вариательной области легкой цепи Ab6 (гуманизированная). CDR1: полукирпичный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

CAAGTCTGACCCAGTCTCCATCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG AGTGTTTATCATAAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACAGGGAAGTTCTTAAGCAACTGATCTATGATGC ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCTACTCTCACATCAGCAGCCTG CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAAGTATGATGATCAATAATGGTGTATGTTTGTCTTCCGGCGGAGG AACCAAGGTGGAAATCAAACTACAGTACGGTGGCTGCACCACTGTCTTCACTCTCCGCACTGATGAGCAGTTGAAATCT GGAACCTGCTCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCC TCCAATCCGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCTCAGCAGCACCTGACCTCAGCAGCACCTGAC CAGTACAGCAGCAGTACAGAAACAAGTCTACCGCTGCCAAGTCAACCATCAGGGCTGAGCTCGCCCTGCA CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG (SEQ ID NO: 191)

**Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab6 (гуманизированная).**

CAAGTCTGACCCAGTCTCCATCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA GTGTTTATCATAAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACAGGGAAGTTCTTAAGCAACTGATCTATGATGCATC CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCTACTCTCACATCAGCAGCCTG CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAAGTATGATGATCAATAATGGTGTATGTTTGTCTTCCGGCGGAGG AACCAAGGTGGAAATCAAACTACAGTACGGTGGCTGCACCACTGTCTTCACTCTCCGCACTGATGAGCAGTTGAAATCT GGAACCTGCTCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCC TCCAATCCGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCTCAGCAGCACCTGACCTCAGCAGCACCTGAC CAGTACAGCAGCAGTACAGAAACAAGTCTACCGCTGCCAAGTCAACCATCAGGGCTGAGCTCGCCCTGCA CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG (SEQ ID NO: 192)

Фиг. 6

**Ab7**

**Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab7 (химера).**

QEQLKESGGRLVTPGTSLLTCTVSGIDLSNHVMQWVRQAPGKGLEWIGVVGINGRTYYASWAKGRFTISRSTSTTVDLKML  
TRLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVYSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFP  
AVLQSSGLYSLSSVTVPSLGLQTYICNVNHKPSNPKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMSR  
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEK  
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 64)

**Белковая последовательность вариательной области тяжелой цепи Ab7 (химера).**

QEQLKESGGRLVTPGTSLLTCTVSGIDLSNHVMQWVRQAPGKGLEWIGVVGINGRTYYASWAKGRFTISRSTSTTVDLKML  
TRLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVYSS (SEQ ID NO: 63)

**Белковая последовательность вариательной области тяжелой цепи Ab7 (химера). CDR1: полукирпичный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

QEQLKESGGRLVTPGTSLLTCTVSGIDLSNHVMQWVRQAPGKGLEWIGVVGINGRTYYASWAKGRFTISRSTSTTVDLKML  
TRLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVYSS (SEQ ID NOS: 68, 69, 70, соответственно)

**Последовательность ДНК вариательной области тяжелой цепи Ab7 (химера). CDR1: полукирпичный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGTCCGCTGGTACGCCGCGGACATCCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGA  
ATCGACCTCAGTAACTACTACATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGAGTGGTGG  
TATGTAATGGTCCGACATACTACCGGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAACCTCGTGCACCGGTGGAT  
CTGAAAATGACAGGCTGACAACTGAGGACACGGCCACCTATTCTGTGCCAGAGGACACTCTGGGGCCAGGCACTG  
CTGGTACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 203)

**Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab7 (химера).**

CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGTCCGCTGGTACGCCGCGGACATCCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGA  
ATCGACCTCAGTAACTACTACATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGAGTGGTGG  
TATGTAATGGTCCGACATACTACCGGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAACCTCGTGCACCGGTGGAT  
CTGAAAATGACAGGCTGACAACTGAGGACACGGCCACCTATTCTGTGCCAGAGGACACTCTGGGGCCAGGCACTG  
CTGGTACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 204)

**Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab7 (химера).**

QVLTQTASPVSAAVGSSTVINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSLASGVSSRFKSGSGTQFTLTISDVQCD  
DAATYYCLGSYDCSTGDCVFVGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN  
DQESVTEQDKSDVYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHIQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 62)

**Белковая последовательность вариательной области легкой цепи Ab7 (химера).**

QVLTQTASPVSAAVGSSTVINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSLASGVSSRFKSGSGTQFTLTISDVQCD  
DAATYYCLGSYDCSTGDCVFVGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 61)

**Белковая последовательность вариательной области легкой цепи Ab7 (химера). CDR1: полукирпичный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

QVLTQTASPVSAAVGSSTVINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSLASGVSSRFKSGSGTQFTLTISDVQCD  
DAATYYCLGSYDCSTGDCVFVGGGTEVVVKR (SEQ ID NOS: 65, 66, 67, соответственно)

**Последовательность ДНК вариательной области легкой цепи Ab7 (химера). CDR1: полукирпичный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

CAAGTGTGACCCAGACTGCATCCCGGTGCTGACGCTGGGAAGCACAGTACCAATCAATTGCCAGGCCAGTCAAG  
AGTGTGTTAATAATACAACTACTTGCCTGGTATCAGCAGAAACAGGGCAGCCCTCCAAAGCACTGATCTATCTAC  
TCCACTCTGGCACTCTGGGCTCTACTGCGATTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTCTCACTCTCACCATCGCCGAG  
TGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCACTTATGACTTATGACTTGGTGTGTTTCTGGCGGAGG  
GACCGAGGTGGTGGTCAAACTGT (SEQ ID NO: 201)

**Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab7 (химера).**

CAAGTGTGACCCAGACTGCATCCCGGTGCTGACGCTGGGAAGCACAGTACCAATCAATTGCCAGGCCAGTCAAG  
AGTGTGTTAATAATACAACTACTTGCCTGGTATCAGCAGAAACAGGGCAGCCCTCCAAAGCACTGATCTATCTACAT  
CCACTTGGCATCTGGGCTCTACTGCGATTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTCTCACTCTCACCATCGCCGAGCT  
GCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCACTTATGACTTATGACTTGGTGTGTTTCTGGCGGAG  
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACTGTACCGTGGCTGCCACTCTGTCTTCACTCTCCGCCATCTGATGAGCAGTGTGAAATC  
TGGAACTGCCCTGTGTGTGCTGCTGTAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATCAAGCC  
CTCCAACTGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCTCAGCAGCACCTG  
ACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACACAAGTCTACGCTGCGAAGTACCCATCAGGCCCTGAGCTCCGCCCTG  
ACAAAGACTTCAACAGGGAGAGTGTAG (SEQ ID NO: 202)

Фиг. 7

**Ab8**

**Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab8 (гуманизированная).**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA<sup>V</sup>SGIDLSNHYMQWVRQAPGKLEWVGVVINGRITYYASWAKGRFTISRDN<sup>S</sup>SKTTVYL  
QMNSLR<sup>A</sup>EDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS<sup>A</sup>TRGSPVYFPLAPSSKSTSGGTALGCLVLDYFPEPVTY<sup>S</sup>WNSGALTS<sup>G</sup>V  
HTFPAVLQSSGLYSLSVYVTPSSSLGTQTYICNVNHIKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLPPKPKD<sup>T</sup>L  
MISRTP<sup>E</sup>VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP<sup>I</sup>  
RIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTIPVLDSDG<sup>S</sup>FFLYSKLTVD  
KSRWQGGVYFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO. 74)

**Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab8 (гуманизированная).**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA<sup>V</sup>SGIDLSNHYMQWVRQAPGKLEWVGVVINGRITYYASWAKGRFTISRDN<sup>S</sup>SKTTVYL  
QMNSLR<sup>A</sup>EDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO. 73)

**Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab8 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA<sup>V</sup>SGIDLSNHYMQWVRQAPGKLEWVGVVINGRITYYASWAKGRFTISRDN<sup>S</sup>SKTTVYL  
QMNSLR<sup>A</sup>EDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NOS: 78, 79, 80, соответственно)

**Последовательность ДНК варибельной области тяжелой цепи Ab8 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA  
TCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCGTTGGTA  
TCAATGGTTCGCACATACTACCGGAGCTGGGCGAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATCCAAAGACCACGGTGT  
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGATTTCTGTCTAGAGCAGGACACTGGGGCCAAAGGGGAC  
CCTCTGACCTCAGCAGC (SEQ ID NO: 213)

**Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab8 (гуманизированная).**

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA  
TCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCGTTGGTA  
TCAATGGTTCGCACATACTACCGGAGCTGGGCGAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATCCAAAGACCACGGTGT  
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGATTTCTGTCTAGAGCAGGACACTGGGGCCAAAGGGGAC  
CCTCTGACCTCAGCAGC (SEQ ID NO: 214)

**Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab8 (гуманизированная).**

QVLTQSPSSLSASVGRV<sup>T</sup>INCAQASQSVYNYNYLAWYQKPKGV<sup>P</sup>KQLIYSTSLASGVPSRFS<sup>G</sup>SGSGTDFTLTISSLPED  
VATYYCLGSDYDCSTGDC<sup>F</sup>VFGGGTKVEIKR<sup>T</sup>VAAPSFIFPPSDEQLKSGTASV<sup>V</sup>CLLNNFYPREAKVQW<sup>K</sup>VDNALQSGNS  
QESYVEQDSKDS<sup>T</sup>YLSSTLPLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSF<sup>N</sup>RGEC (SEQ ID NO. 72)

**Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab8 (гуманизированная).**

QVLTQSPSSLSASVGRV<sup>T</sup>INCAQASQSVYNYNYLAWYQKPKGV<sup>P</sup>KQLIYSTSLASGVPSRFS<sup>G</sup>SGSGTDFTLTISSLPED  
VATYYCLGSDYDCSTGDC<sup>F</sup>VFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO. 71)

**Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab8 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

QVLTQSPSSLSASVGRV<sup>T</sup>INCAQASQSVYNYNYLAWYQKPKGV<sup>P</sup>KQLIYSTSLASGVPSRFS<sup>G</sup>SGSGTDFTLTISSLPED  
VATYYCLGSDYDCSTGDC<sup>F</sup>VFGGGTKVEIKR (SEQ ID NOS: 75, 76, 77, соответственно)

**Последовательность ДНК варибельной области легкой цепи Ab8 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

CAAGTGCAGCCAGTCTCCATCCTCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATGCCAGGCCAGTCCAG  
AGTGTTTACAATTAACAACCTACCTTGCCTGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTAC  
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCAACATCAGCAGC  
CTGCAGCC<sup>T</sup>GAAAGATGTTGCAAC<sup>T</sup>ATTACTGCTGGGGCAGTTA<sup>G</sup>ATTGATGAT<sup>T</sup>CTGGGATGTTTTCGGCGGGAG  
GAACCAAGGTGGAAATCAACAGT (SEQ ID NO. 211)

**Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab8 (гуманизированная).**

CAAGTGCAGCCAGTCTCCATCCTCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATGCCAGGCCAGTCCAG  
GTGTTACAATTAACAACCTACCTTGCCTGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATC  
CACTCTGGCACTGGGGTCCCATCTCGTTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCAACATCAGCAGCCTG  
CAGCCTGAAGATGTTGCAAC<sup>T</sup>ATTACTGCTGGGCAAGTATGATGTTGATGATCTGGTGTATGTTTGTGTTTCGGCGGGAG  
AACCAAGGTGGAAATCAACAAGTACGGTGGCTGCACCATCTGCTTCACTCTCCGCCACTGATGAGCAGTGAATCT  
GGAAC<sup>T</sup>GGCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAAC<sup>T</sup>CTATCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCC  
TCCAATCGGGTAACTCCAGGAGATGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAGCCTCACGCTCAGCAGCAGCCTGA  
CGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAACAAGTCTACGCTGCAGGATCACCATCAGGGCTGAGCTCGCCGCTCA  
CAAAGAGCTTCAACAGGGAGAGTGTAG (SEQ ID NO: 212)

Фиг. 8



**Ab10**

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab10 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTYATWAKGRFTISRDNSTKTYVYL  
QMNSLRAEDTAVYFCTRWDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 94)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab10 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTYATWAKGRFTISRDNSTKTYVYL  
QMNSLRAEDTAVYFCTRWDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 93)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab10 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTYATWAKGRFTISRDNSTKTYVYL  
QMNSLRAEDTAVYFCTRWDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NOS: 98, 99, 100, соответственно)

Последовательность ДНК варибельной области тяжелой цепи Ab10 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCC1GGGGGGTCCCTGAGACTCTCCGTGTCAGTCTCTGGAA  
TCGGCCTCAGTACTACTACATGCAATGGGTCCTGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCTTGGTA  
CTGATGGTAAAGACATACTACCGGACCTGGCCGAAAGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTC AAGACCCAGGCT  
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGATTTCTGACAGAGGGGACATCTGGGCCAAGGGGAC  
CCCTCGTCCAGCCTTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCATCGGCTTCCCTCCAGCCTCCCTCCAAGAGCACTCTGG  
GGGACAGCGGCCCTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACTCCCGAACCCTGACCGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCT  
GACAGCGGCTGCACACTTCCCGGCTGCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGCAGCGTGCCT  
TCCAGCAGCTTGGGCAACAGACTACATCTGCAACGTGAATCAACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGT  
GAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTCCAGCAGCCTGAACCTCTGGGGGACCGTCACTCTCC  
TCTTCCCTCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCGGAGCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGAGTGAACCA  
CGAAGACCTTGAGGTTAAGTTCAAC TGGTACGTGGACGGGCTGGAGGTGCAATATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGG  
AGCAGTACGCCAGCAGTACCGTGTGGTACGGCTCTACCGTCTGACACAGGACTGGTGAATGGCAAGGATACA  
AGTGAAGGTTCTCCAAAGCCCTCCAGCCCTCATCGAGAAAACATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAAC  
CACAGGTGTACACCTTGGCCCAATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTCAGCTGACCTGCTGCTCAAAGGCT  
TCTATCCAGCGACTCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGAGCCGGAGACAACCTACAAGACCAGCCCTCCGTC  
TGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTTCTC  
ATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACAAACCACTACAGCAGAAAGAGCTCTCCCTGCTCTCCGGTAAATGA (SEQ ID  
NO 234)

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab10 (гуманизированная).

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCC2GGGGGGTCCCTGAGACTCTCCGTGTCAGTCTCTGGAA  
TCGGCCTCAGTACTACTACATGCAATGGGTCCTGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCTTGGTA  
GTGATGGTAAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTC AAGACCCAGGCT  
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGATTTCTGACAGAGGGGACATCTGGGCCAAGGGGAC  
CCCTCGTCCAGCCTTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCATCGGCTTCCCTCCAGCCTCCCTCCAAGAGCACTCTGG  
GGGACAGCGGCCCTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACTCCCGAACCCTGACCGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCT  
GACAGCGGCTGCACACTTCCCGGCTGCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGCAGCGTGCCT  
TCCAGCAGCTTGGGCAACAGACTACATCTGCAACGTGAATCAACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGT  
GAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTCCAGCAGCCTGAACCTCTGGGGGACCGTCACTCTCC  
TCTTCCCTCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCGGAGCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGAGTGAACCA  
CGAAGACCTTGAGGTTAAGTTCAAC TGGTACGTGGACGGGCTGGAGGTGCAATATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGG  
AGCAGTACGCCAGCAGTACCGTGTGGTACGGCTCTACCGTCTGACACAGGACTGGTGAATGGCAAGGATACA  
AGTGAAGGTTCTCCAAAGCCCTCCAGCCCTCATCGAGAAAACATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAAC  
CACAGGTGTACACCTTGGCCCAATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTCAGCTGACCTGCTGCTCAAAGGCT  
TCTATCCAGCGACTCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGAGCCGGAGACAACCTACAAGACCAGCCCTCCGTC  
TGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTTCTC  
ATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACAAACCACTACAGCAGAAAGAGCTCTCCCTGCTCTCCGGTAAATGA (SEQ ID  
NO 234)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab10 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCQASQNVYNNYLAWYQQKPKGVKQLIYSTSLASGVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPED  
VATYYCLGSDYDCSRGDCFEVGGGKVEIKR (SEQ ID NO: 95)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab10 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCQASQNVYNNYLAWYQQKPKGVKQLIYSTSLASGVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPED  
VATYYCLGSDYDCSRGDCFEVGGGKVEIKR (SEQ ID NO: 91)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab10 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCQASQNVYNNYLAWYQQKPKGVKQLIYSTSLASGVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPED  
VATYYCLGSDYDCSRGDCFEVGGGKVEIKR (SEQ ID NOS: 95, 96, 97, соответственно)

Последовательность ДНК варибельной области легкой цепи Ab10 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAAGTGTGACCCAGTCTCCATCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCA  
AATGTTTACAATAACAACACTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTAC  
ATCCACTCTGGCACTCTGGGGTCCATCTCGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC  
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCACTTATGATTTGATGCTGGGATATTTTGTCTTCCGGCGGAG  
GAACCAAGGTGGAATCAACAGT (SEQ ID NO: 231)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab10 (гуманизированная).

CAAGTGTGACCCAGTCTCCATCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCA  
ATGTTTACAATAACAACACTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATC  
CACTCTGGCATCTGGGGTCCATCTCGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG  
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCACTTATGATTTGATGCTGGTGTATTTTGTCTTCCGGCGGAGG  
AACCAAGGTGGAATAACAACGACGCTGGTGGCTGCACCACTGTCTTCACTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT  
GGAACCTGCTGTTGTGTGCTTGTGTAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCC  
TCCAACTGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACTACAGCCTCAGCAGCAGCCTGGA  
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAACAACAAGTCTACGCTGCGAAGTCAACCATCAGGCGCTGAGCTGCGCCGCTCA  
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG (SEQ ID NO: 232)

Фиг. 10

**Ab11**

**Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab11 (химера).**

QSL EESGGRLVTPGGSLTLTCTVSGIDVTNYMQWVVRQAPGKLEWIGVIGVNGKRYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMT  
SLTTEIDATYFCARGDIWGPGLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALISGVHFPFA  
VLQSSGLYLSLVVTVPSSSLGTQIYICNVNHNKPSNTKVDKRVKPEKSCDKTHTPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT  
PEVTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNKAKTPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKFI  
SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSGGFFLYSKLTVDKSRWQ  
QGNVYFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 104)

**Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab11 (химера).**

QSL EESGGRLVTPGGSLTLTCTVSGIDVTNYMQWVVRQAPGKLEWIGVIGVNGKRYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMT  
SLTTEIDATYFCARGDIWGPGLVTVSS (SEQ ID NO 103)

**Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab11 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

QSL EESGGRLVTPGGSLTLTCTVSGIDVTNYMQWVVRQAPGKLEWIGVIGVNGKRYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMT  
SLTTEIDATYFCARGDIWGPGLVTVSS (SEQ ID NOS: 108, 109, 110, соответственно)

**Последовательность ДНК варибельной области тяжелой цепи Ab11 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGTCCGCTGGTACGCGCTGGAGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCG  
ACGTCACCTAACTACTATATGCAATGGGTCGCGCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCAITGGGTGTA  
ATGGTAAGAGATACTACCGGAGCTGGGGGAAAGGGCGATTACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGA  
AAATGACCACTGACAAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGACATCTGGGGCCCGGGGACCTCTCG  
TCACTCGTCCGAGCGCTCCACCAAGGGCCCATCGGCTTCCCTGGCACCTCTCCAAAGAGCACCTCTGGGGGAC  
AGCGGGCTTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCTGACACAG  
CGCGTGCACACCTTCCCGGCTGCTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGC  
AGCTTGGGACCCAGACTACATCTGCAACGTGAATCAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCC  
AAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCCACCGTGCACGACCTGAACCTCTGGGGGACCGTCACTTCTCTCTCC  
CCCCAAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAG  
ACCTGAGGTCAAGTTCACCTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCCGGGGAGGAGCAG  
TACGCCAGCAGCTACCGTGTGGTACGGCTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTCAAGGTGC  
AAGGTCTTCAACAAAGCCCTCCAGCCCTCATCGAGAAAACCTCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCGGAGAACACAG  
GTGTACACCTTGCCTCCATCCGGGAGGAGATGACCAGAACCAGGTACGCTGACCTGCTGGTCAAGGCTTCTATC  
CCAGGACACTCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGACGGGAGAACAACTACAAGACCACCGCTCCGCTGCTGGACT  
CCGACGGCTCTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTCTTCTATGCTC  
CGTGAATGATGAGGCTGCAACAACACTACACGCAAGAGCCCTCCCTGCTCCGGTAAATGA (SEQ ID NO: 243)

**Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab11 (химера).**

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGTCCGCTGGTACGCGCTGGAGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCG  
ACGTCACCTAACTACTATATGCAATGGGTCGCGCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCAITGGGTGTA  
ATGGTAAGAGATACTACCGGAGCTGGGGGAAAGGGCGATTACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGA  
AAATGACCACTGACAAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGACATCTGGGGCCCGGGGACCTCTCG  
TCACTCGTCCGAGCGCTCCACCAAGGGCCCATCGGCTTCCCTGGCACCTCTCCAAAGAGCACCTCTGGGGGAC  
AGCGGGCTTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCTGACACAG  
CGCGTGCACACCTTCCCGGCTGCTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGC  
AGCTTGGGACCCAGACTACATCTGCAACGTGAATCAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCC  
AAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCCACCGTGCACGACCTGAACCTCTGGGGGACCGTCACTTCTCTCTCC  
CCCCAAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAG  
ACCTGAGGTCAAGTTCACCTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCCGGGGAGGAGCAG  
TACGCCAGCAGCTACCGTGTGGTACGGCTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTCAAGGTGC  
AAGGTCTTCAACAAAGCCCTCCAGCCCTCATCGAGAAAACCTCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCGGAGAACACAG  
GTGTACACCTTGCCTCCATCCGGGAGGAGATGACCAGAACCAGGTACGCTGACCTGCTGGTCAAGGCTTCTATC  
CCAGGACACTCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGACGGGAGAACAACTACAAGACCACCGCTCCGCTGCTGGACT  
CCGACGGCTCTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTCTTCTATGCTC  
CGTGAATGATGAGGCTGCAACAACACTACACGCAAGAGCCCTCCCTGCTCCGGTAAATGA (SEQ ID NO: 244)

**Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab11 (химера).**

QVLTQTASPVSPAVGSTVTINCRASQSVYNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTL ASGVSSRFKGS GSGTQFTLTISDVQCDD  
AATYYCLGSYDCSNIGDCVFGGGTEVYVVKR (SEQ ID NO 102)

**Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab11 (химера).**

QVLTQTASPVSPAVGSTVTINCRASQSVYNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTL ASGVSSRFKGS GSGTQFTLTISDVQCDD  
AATYYCLGSYDCSNIGDCVFGGGTEVYVVKR (SEQ ID NO 101)

**Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab11 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

QVLTQTASPVSPAVGSTVTINCRASQSVYNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTL ASGVSSRFKGS GSGTQFTLTISDVQCDD  
DAATYYCLGSYDCSNIGDCVFGGGTEVYVVKR (SEQ ID NOS: 105, 106, 107, соответственно)

**Последовательность ДНК варибельной области легкой цепи Ab11 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

CAGGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCGCTGCTCCAGCTGTGGGAAGCAGATCACCATCAATTCGCCGGGCCAGTCAAG  
AGTGTATTATATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAAACAGGGCAGCCTCCAAGCAACTGATCTATCTAC  
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGTTCAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTCACTCTCACCTACAGCGACGTG  
GTGAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTATGATGTAGTAATGGTGAATGTTTGTTCGGCGGAG  
GACCGAGGTGGTGGTCAAAACGTACGGTGCACCTCTGTCTTCACTTCCCGCATCTGATGAGCAGTGAATCT  
GGAACCTGCCTCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATTAACGCC  
TCAATTCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCTCAGCAGCACCTGCA  
CGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACAAAGTCTACCGCTGCGAAGTCAACCCATCAGGCTGAGCTGCCCTGCA  
CAAAGAGCTCAACAGGGGAGAGTGTAG (SEQ ID NO: 241)

**Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab11 (химера).**

CAGGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCGCTGCTCCAGCTGTGGGAAGCAGATCACCATCAATTCGCCGGGCCAGTCAAG  
GTGTATTATATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAAACAGGGCAGCCTCCAAGCAACTGATCTATCTAC  
CACCTCGCATCTGGGGTCTCATCGCGTTCAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTCACTCTCACCTACAGCGACGTG  
CAGTGTGAGTATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTATGATGTAGTAATGGTGAATGTTTGTTCGGCGGAG  
GACCGAGGTGGTGGTCAAAACGTACGGTGCACCTCTGTCTTCACTTCCCGCATCTGATGAGCAGTGAATCT  
GGAACCTGCCTCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATTAACGCC  
TCAATTCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCTCAGCAGCACCTGCA  
CGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACAAAGTCTACCGCTGCGAAGTCAACCCATCAGGCTGAGCTGCCCTGCA  
CAAAGAGCTCAACAGGGGAGAGTGTAG (SEQ ID NO: 242)

Фиг. 11

**Ab12**

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab12 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDVTNYMQWVVRQAPGKLEWVGVIGVNGKRYASWAKGRFTISRDNKSTTVYL  
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGGGLTVTVSS  
HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSLSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKRVEPKSCDKRTHICPPCPAPELIGGPSVFLFIPKPKDIL  
MISRTPEVTCVYVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNKTKPREEQYASTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA  
PIFKTISKAKQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGFFLYSKLTVD  
KSRWQQGNVYFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 114)

Белковая последовательность вариательной области тяжелой цепи Ab12 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDVTNYMQWVVRQAPGKLEWVGVIGVNGKRYASWAKGRFTISRDNKSTTVYL  
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGGGLTVTVSS (SEQ ID NO: 113)

Белковая последовательность вариательной области тяжелой цепи Ab12 (гуманизированная). CDR1: полужирный;

CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.  
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDVTNYMQWVVRQAPGKLEWVGVIGVNGKRYASWAKGRFTISRDNKSTTVY  
LQMSLRAEDTAVYFCARGDIWGGGLTVTVSS (SEQ ID NOS: 118, 119, 120, соответственно)

Последовательность ДНК вариательной области тяжелой цепи Ab12 (гуманизированная). CDR1: полужирный;

CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.  
GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTCCAGCCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCCTGTGCAGTCTCGGAA  
TCGACGTCACCTAACTACTACATGCAATGGGTCCTGACGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCAATTGGTG  
TGAATGGTAAAGAGATACTACCGGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCCACTCTCCAGAGACAATCCAAAGCCACCAAGGTG  
ATCTTCAAATGAACAGCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTCTGTGCCAGAGGGGACATGGGGCCAAAGGAC  
CCTCTCGTACCCGTCCTGAGCGCTCCACCAAGGGGCCATCGGCTTCCCTCCAGACCTCTCCCAAGAGCACCTCTGG  
GGGCACAGCGGCTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCTGGTACCGGTGTCTGGAACTCAGGCGCTCT  
GACCAGCGGCGTGCACACTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCCCTGGCC  
TCCAGCAGCTGGGCACTCAGACTTACTTCAAGCTGTAATCAAGCCAGCAACACTAAGTGGACAAGAGAGTT  
GACCCCAAATCTTGTGACAAACTTACACATGCCCACCGTCCAGCAGCTGAATCTCTGGGGGACCGTCACTCTCC  
TCTCCCTCCAAAACCAAGGACACCTCAATGATCTCCCGAACCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGAGCTGAGCCA  
CGAAGACCTTGAAGTCAAGTCAACTGGTACGTGGAGCGGCTGGAGGTGCAATATGCCAAGACAAGCGCGGGAGCA  
AGCAAGTACCGCAGCAGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCAGCTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACA  
AGTGCAGGCTTCCAAACAGCTTCCAGCCCTATCGAGAAAACACTTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAGAAC  
CACAGGTGTACACCTGCCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAAGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCT  
TCTATCCAGCGACACTCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCGAGCCGAGAGAACACTTCAAGACCACGCTCCCGTGC  
TGGACTCCGACCGCTCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACTCTTCT  
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACACTACACCGAGAGAGCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATGA (SEQ ID  
NO: 253)

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab12 (гуманизированная).

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTCCAGCCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCTGTGCAGTCTCGGAA  
TCGACGTCACCTAACTACTACATGCAATGGGTCCTGACGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCAATTGGTG  
TGAATGGTAAAGAGATACTACCGGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCCACTCTCCAGAGACAATCCAAAGCCACCAAGGTG  
ATCTTCAAATGAACAGCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTCTGTGCCAGAGGGGACATGGGGCCAAAGGAC  
CCTCTCGTACCCGTCCTGAGCGCTCCACCAAGGGGCCATCGGCTTCCCTCCAGACCTCTCCCAAGAGCACCTCTGG  
GGGCACAGCGGCTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCTGGTACCGGTGTCTGGAACTCAGGCGCTCT  
GACCAGCGGCGTGCACACTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCCCTGGCC  
TCCAGCAGCTGGGCACTCAGACTTACTTCAAGCTGTAATCAAGCCAGCAACACTAAGTGGACAAGAGAGTT  
GACCCCAAATCTTGTGACAAACTTACACATGCCCACCGTCCAGCAGCTGAATCTCTGGGGGACCGTCACTCTCC  
TCTCCCTCCAAAACCAAGGACACCTCAATGATCTCCCGAACCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGAGCTGAGCCA  
CGAAGACCTTGAAGTCAAGTCAACTGGTACGTGGAGCGGCTGGAGGTGCAATATGCCAAGACAAGCGCGGGAGCA  
AGCAAGTACCGCAGCAGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCAGCTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACA  
AGTGCAGGCTTCCAAACAGCTTCCAGCCCTATCGAGAAAACACTTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAGAAC  
CACAGGTGTACACCTGCCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAAGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCT  
TCTATCCAGCGACACTCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCGAGCCGAGAGAACACTTCAAGACCACGCTCCCGTGC  
TGGACTCCGACCGCTCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACTCTTCT  
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACACTACACCGAGAGAGCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATGA (SEQ ID  
NO: 254)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab12 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCRAASQSVYNNYLAWYQKPKGVKPKLIYSTSLASGVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPEDV  
ATYYCLGSYDCSNGDCLVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYREAKYQWKVDNALQSGNSQ  
ESYTEQDSKDSYSLSSITLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 112)

Белковая последовательность вариательной области легкой цепи Ab12 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCRAASQSVYNNYLAWYQKPKGVKPKLIYSTSLASGVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPEDV  
ATYYCLGSYDCSNGDCLVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 111)

Белковая последовательность вариательной области легкой цепи Ab12 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2:

подчеркнутый; CDR3: курсив.  
QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCRAASQSVYNNYLAWYQKPKGVKPKLIYSTSLASGVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPED  
VATYYCLGSYDCSNGDCLVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NOS: 115, 116, 117, соответственно)

Последовательность ДНК вариательной области легкой цепи Ab12 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2:

подчеркнутый; CDR3: курсив.  
CAAGTGTCTGACCCAGTCTCCATCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCCACCAATTCGCGGGCCAGTCAG  
AGTGTCTTACTATAAACAACACTAGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAGTTCTCAAGCACTGATCTATCTAC  
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCACTCGTTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATAAGCAGC  
CTGCAGCTTGAAGATGTGCAACTTACTGTCAGGCAAGTATGTAATGGTGAATGTTTGTTCGCGGGAGG  
GAACCAAGGTGGAATCAACAGTACGGTGGCTGCACCACTCTGCTTCACTTCCCGCACTGATGAGCAGTTGAATCT  
GGAACCTGCCTGTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCC  
TCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACTCTGA  
CGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACAAGTCTACGCTGCGGAAGTCACTCAGGCTCAGGCTCGCCCTGCA  
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG (SEQ ID NO: 251)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab12 (гуманизированная).

CAAGTGTCTGACCCAGTCTCCATCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCCACCAATTCGCGGGCCAGTCAG  
GTGTTTACTATAAACAACACTAGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAGTTCTCAAGCACTGATCTATCTACATC  
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCACTCGTTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATAAGCAGCCTG  
CAGCTTGAAGATGTGCAACTTACTGTCAGGCAAGTATGATGTAATGGTGAATGTTTGTTCGCGGGAGG  
AACCAAGGTGGAATCAACAGTACGGTGGCTGCACCACTCTGCTTCACTTCCCGCACTGATGAGCAGTTGAATCT  
GGAACCTGCCTGTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCC  
TCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACTCTGA  
CGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACAAGTCTACGCTGCGGAAGTCACTCAGGCTCAGGCTCGCCCTGCA  
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG (SEQ ID NO: 252)

Фиг. 12

**Ab13**

**Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab13 (химера).**

QSVVEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFDFSSNAMWVVRQAPGKGLEWIGCIYNGDGSTYYASWVNGRFSISKTSSTTVTLQL  
NSLTVADTATYYCARLDLWGPGLTVYSSASTKGPSVFLPLPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGLVIT  
FPAVLQSSGLYSLSSVATVPSSSLGTQTYICNVNHIKPSNTKVDKRVPEKSCDKTHTCPPAPELLGGPSVFLFPPKPKDILMI  
SRTPVETCVVDVSHEDPEYKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE  
KTIISKARQGPREPQVYVLPSSREE:MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGFFLYSKLTVDKSR  
WQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK (SEQ ID NO: 124)

**Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab13 (химера).**

QSVVEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFDFSSNAMWVVRQAPGKGLEWIGCIYNGDGSTYYASWVNGRFSISKTSSTTVTLQL  
NSLTVADTATYYCARLDLWGPGLTVYSS (SEQ ID NO: 123)

**Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab13 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

QSVVEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFDFSSNAMWVVRQAPGKGLEWIGCIYNGDGSTYYASWVNGRFSISKTSSTTVTLQL  
NSLTVADTATYYCARLDLWGPGLTVYSS (SEQ ID NOS: 128, 129, 130 соответственно)

**Последовательность ДНК варибельной области тяжелой цепи Ab13 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

CAGTCTGGTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCTGGTCCAGCCTGAGGGATCCCTGACACTCACAGCCTCTGGATTC  
GACTTCAGTAGCAATGCAATGCTGGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCAATTAACA  
TGGTGAATGCGACACATACTACGCGAGCTGGGTGAATGGCCGATTCCTATCTCCAAAACCTCGTCGACACGGGTGACT  
CTGCACATGAAATAGTCTGACAGTCCGGGACACGGCCAGCTATTATTGTGCGAGAGATTTGACCTGTGGGCCCGGGCA  
CCCTCGTCACTGCTCCGAGC (SEQ ID NO: 263)

**Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab13 (химера).**

CAGTCTGGTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCTGGTCCAGCCTGAGGGATCCCTGACACTCACAGCCTCTGGATTC  
GACTTCAGTAGCAATGCAATGCTGGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCAATTAACA  
TGGTGAATGCGACACATACTACGCGAGCTGGGTGAATGGCCGATTCCTATCTCCAAAACCTCGTCGACACGGGTGACT  
TGCACATGAAATAGTCTGACAGTCCGGGACACGGCCAGCTATTATTGTGCGAGAGATTTGACCTGTGGGCCCGGGCA  
CCCTCGTCACTGCTCCGAGC (SEQ ID NO: 264)

**Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab13 (химера).**

AIVMTQTPSSKSVPVGDTVTINCAQESLYNNAALAWFQKPGQPPKRLIYDASKLASGVPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCD  
DAATYYCGGYRSDSVYDGFAGGTEVYVVRVYAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVYVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN  
SQESYVTEQDSKDYSLSSITLSKADYVKHKVYACEVTHQGLSSPYTKSPNRGEC (SEQ ID NO: 122)

**Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab13 (химера).**

AIVMTQTPSSKSVPVGDTVTINCAQESLYNNAALAWFQKPGQPPKRLIYDASKLASGVPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCD  
DAATYYCGGYRSDSVYDGFAGGTEVYVVR (SEQ ID NO: 121)

**Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab13 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

AIVMTQTPSSKSVPVGDTVTINCAQESLYNNAALAWFQKPGQPPKRLIYDASKLASGVPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCD  
DAATYYCGGYRSDSVYDGFAGGTEVYVVR (SEQ ID NOS: 125, 126, 127, соответственно)

**Последовательность ДНК варибельной области легкой цепи Ab13 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

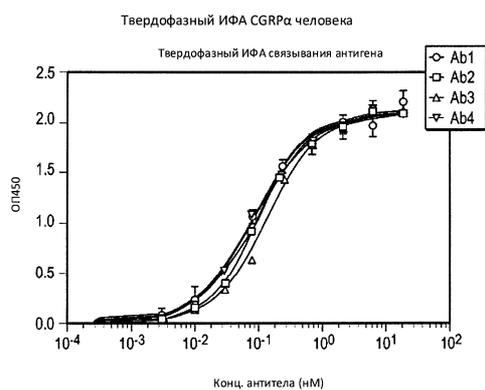
GCCATCTGTGATGACCCAGACTCCATCTTCCAAAGTCTGTCCCTGTGGGAGACACAGTCACTCAATGCCAGGCCAGT  
GAGAGTCTTTATAATAACAACGCCTTGGCTGGTTCCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCAAAGCGCTGATCTATGATG  
TGCATCCAAACTGGCATCTGGGGTCCATCGCGGTTCAAGTGGCGGTGGGTCTGGGACACAGTTCACCTCTCACCATCAGT  
GGCTGACAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTGGAGGCTACAGAAGTATAGTGTGATGGTGTGCTTTCGCCGGA  
GGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT (SEQ ID NO: 261)

**Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab13 (химера).**

GCCATCTGTGATGACCCAGACTCCATCTTCCAAAGTCTGTCCCTGTGGGAGACACAGTCACTCAATGCCAGGCCAGT  
AGAGTCTTTATAATAACAACGCCTTGGCTGGTTCCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCAAAGCGCTGATCTATGATG  
ATCCAAACTGGCATCTGGGGTCCATCGCGGTTCAAGTGGCGGTGGGTCTGGGACACAGTTCACCTCTCACCATCAGTGGC  
GTGCAAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTGGAGGCTACAGAAGTATAGTGTGATGGTGTGCTTTCGCCGGA  
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACCGTGGCTGCCACTTGTCTTCACTCTCCCGCATCTGATGAGCAGTGAATGAAATC  
TGGAACTGCCCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGATAACGCC  
CTCCAACTGGGTAAGTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCCTACAGCCTCAGCAGCAGCCTG  
ACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACAAGTCTACGCTGCGGAAGTCACTCCAGGGCTGAGCTGCGCCGCT  
ACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG (SEQ ID NO: 262)

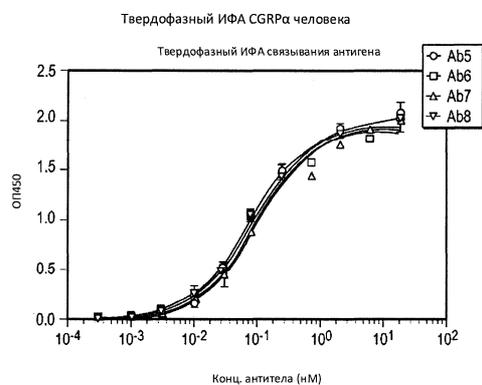
Фиг. 13





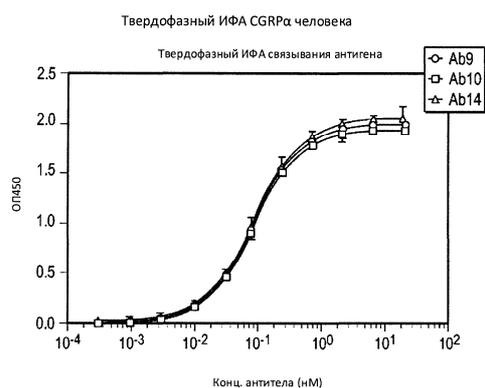
	EC50 (нМ)
Ab1	103
Ab2	83
Ab3	154
Ab4	88

Фиг. 15



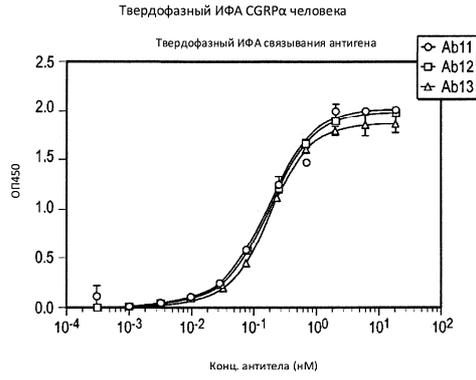
	EC50 (нМ)
Ab5	103
Ab6	95
Ab7	70
Ab8	74

Фиг. 16



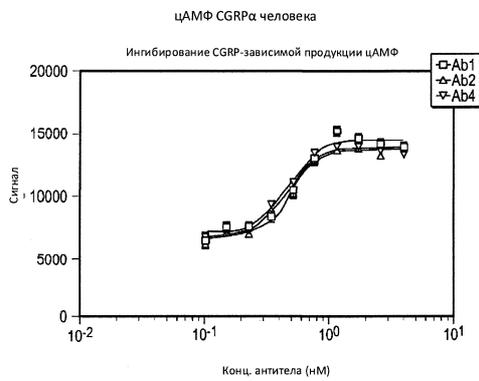
	EC50 (нМ)
Ab9	79
Ab10	92
Ab14	89

Фиг. 17



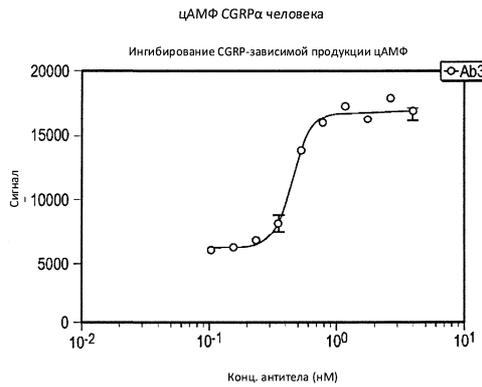
	EC50 (nM)
Ab11	184
Ab12	171
Ab13	188

Фиг. 18



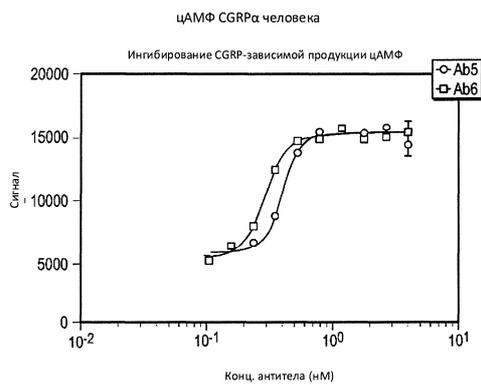
	IC50 (nM)
Ab1	531
Ab2	452
Ab4	429

Фиг. 19



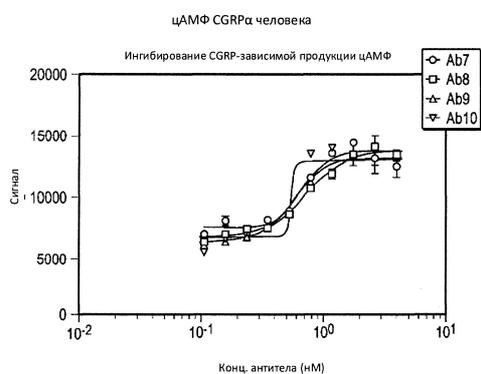
	IC50 (nM)
Ab3	452

Фиг. 20



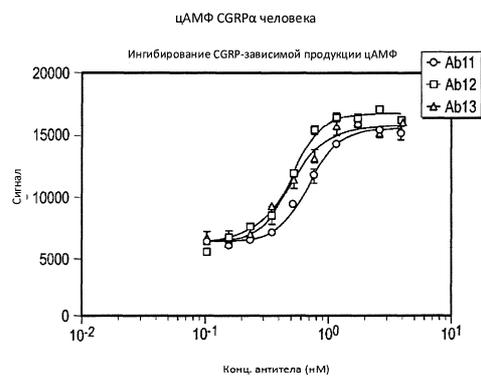
	IC50 (нМ)
Ab5	400
Ab6	288

Фиг. 21



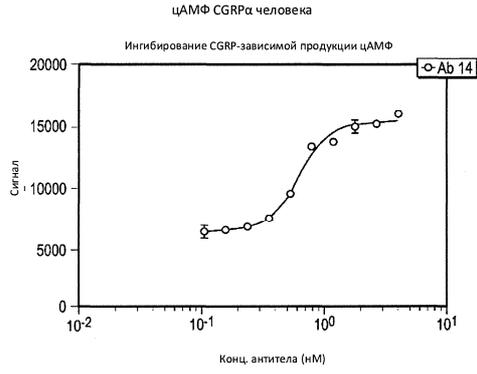
	IC50 (нМ)
Ab7	743
Ab8	734
Ab9	568
Ab10	542

Фиг. 22

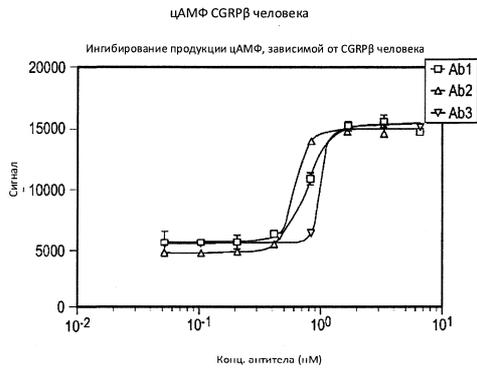


	IC50 (нМ)
Ab11	698
Ab12	511
Ab13	498

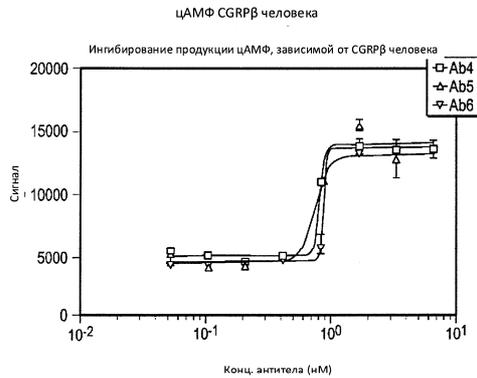
Фиг. 23



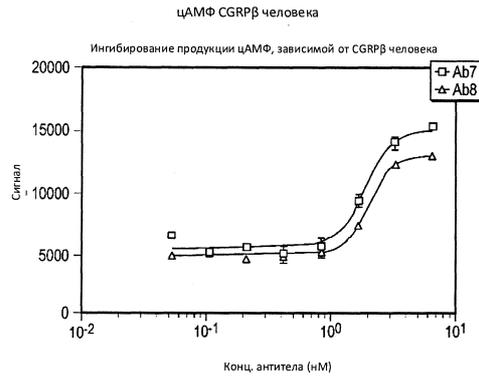
Фиг. 24



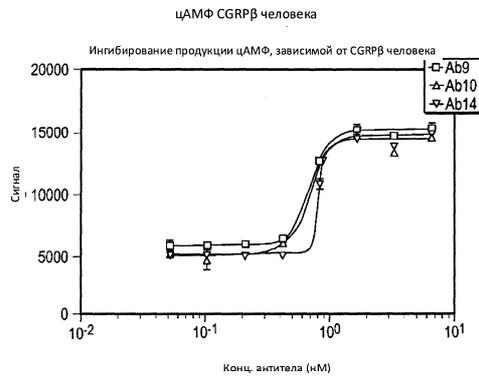
Фиг. 25



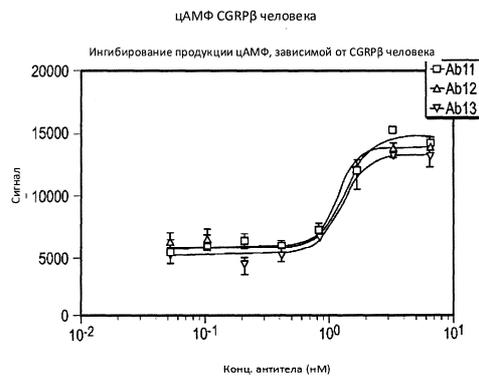
Фиг. 26



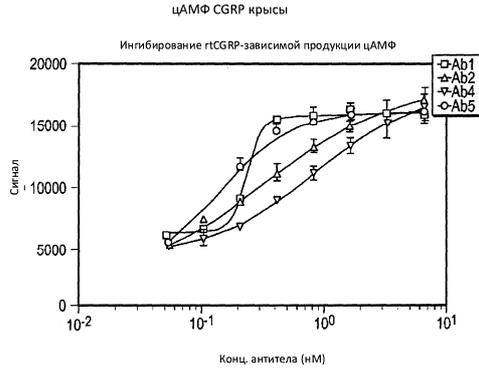
Фиг. 27



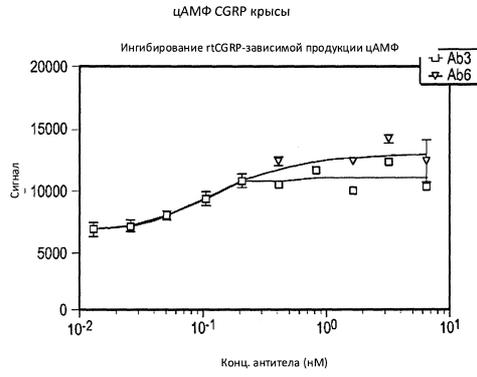
Фиг. 28



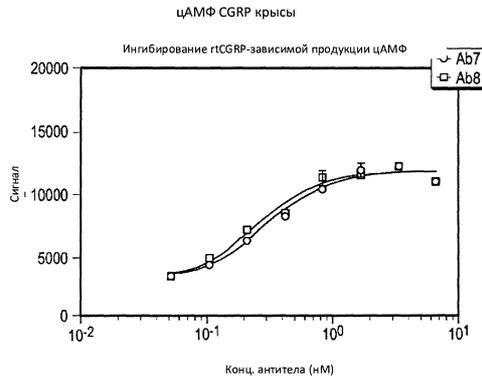
Фиг. 29



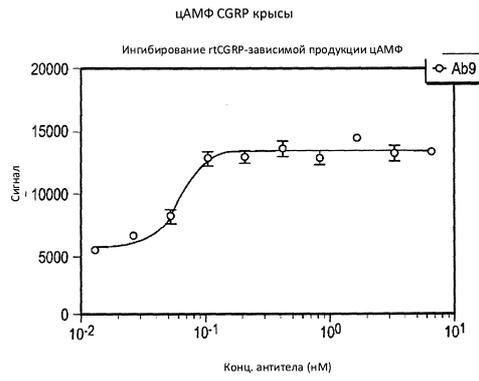
Фиг. 30



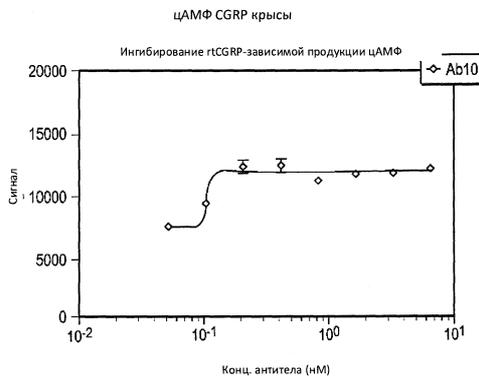
Фиг. 31



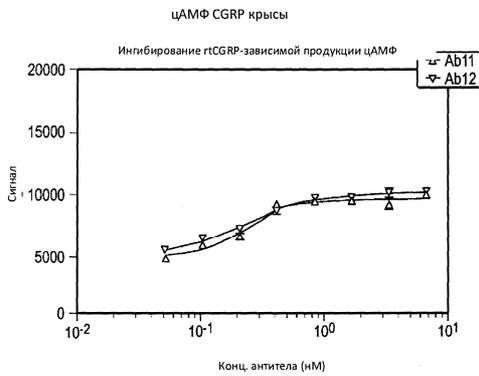
Фиг. 32



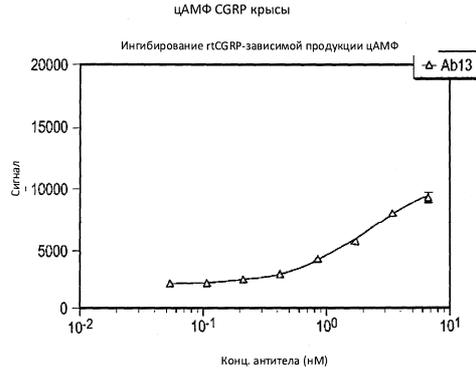
Фиг. 33



Фиг. 34

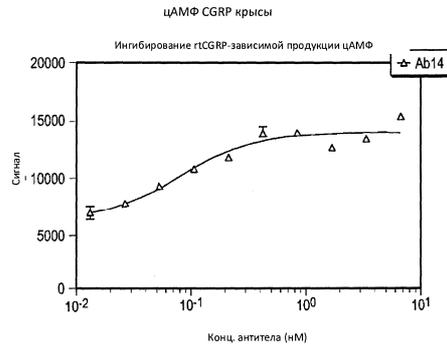


Фиг. 35



	IC50 (нМ)
Ab13	2036

Фиг. 36



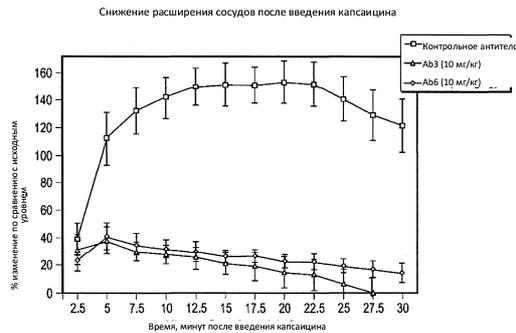
	IC50 (нМ)
Ab14	81

Фиг. 37

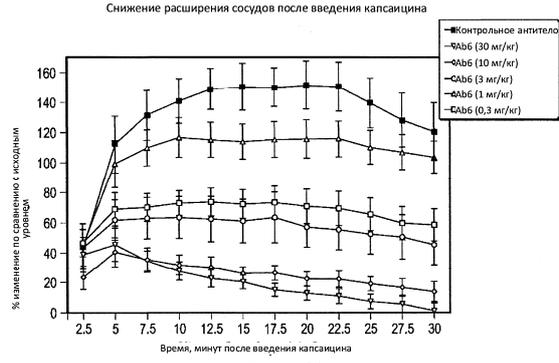
Ингибирование связывания радиолиганда

	IC <sub>50</sub> (нМ)	K <sub>i</sub> (нМ)
Ab1	0.585	0.46
Ab2	0.482	0.378
Ab3	2.49	10.96
Ab4	0.579	0.455
Ab5	0.586	0.461
Ab6	2.46	1.94
Ab7	4.53	3.56
Ab8	0.936	0.736
Ab9	2.03	1.6
Ab10	0.28	0.22
Ab11	2.26	1.78
Ab12	0.315	0.248
Ab13	0.335	0.264

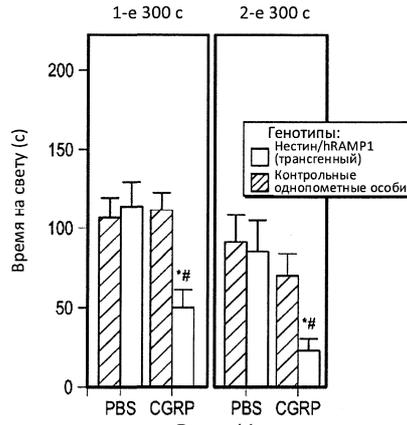
Фиг. 38



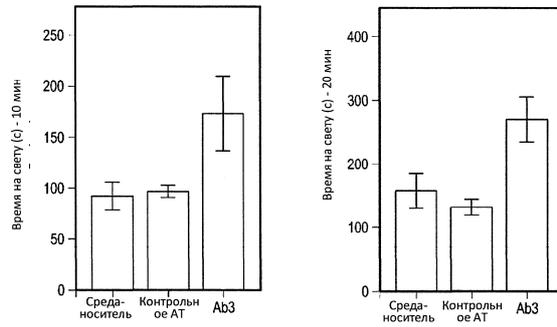
Фиг. 39



Фиг. 40



Фиг. 41



Фиг. 42

