

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201990958** (13) **A2**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.05.31

(22) Дата подачи заявки
2012.05.21

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01)
A61P 1/12 (2006.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ АНТИТЕЛ ИЛИ ФРАГМЕНТОВ АНТИТЕЛ ПРОТИВ CGRP ИЛИ ПРОТИВ CGRP-R ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИЛИ ПРОФИЛАКТИКИ ХРОНИЧЕСКИХ И ОСТРЫХ ФОРМ ДИАРЕИ

(31) 61/488,660; 61/496,873

(32) 2011.05.20; 2011.06.14

(33) US

(62) 201301292; 2012.05.21

(71) Заявитель:
**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:
Фелицына С.Б. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к способам лечения диареи как хронической, так и острой путем введения терапевтически или профилактически эффективного количества антител и их фрагментов, обладающих специфичностью связывания по отношению к CGRP. В частности, указанные способы предотвращают или ослабляют диарею при состояниях или способах лечения, приводящих к повышенным уровням CGRP, например, в желудочно-кишечном тракте (толстой кишке), ассоциированным с диареей и/или аномальным выделением электролитов и жидкости из кишечника или мочевыделительной системы. Конкретнее, настоящее изобретение относится к способам лечения с помощью антител и фрагментов против CGRP, описанных здесь, и их связывающих фрагментов.

201990958

A2

A2

201990958

ПРИМЕНЕНИЕ АНТИТЕЛ ИЛИ ФРАГМЕНТОВ АНТИТЕЛ ПРОТИВ CGRP ИЛИ ПРОТИВ CGRP-R ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИЛИ ПРОФИЛАКТИКИ ХРОНИЧЕСКИХ И ОСТРЫХ ФОРМ ДИАРЕИ

Родственные заявки

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет предварительной заявки США № 61/496873 (№ патентного реестра 67858.770000), поданной 14 июня 2011 г. под названием "USE OF ANTI-CGRP ANTIBODIES AND ANTIBODY FRAGMENTS TO TREAT DIARRHEA IN SUBJECTS WITH DISEASES OR TREATMENTS THAT RESULT IN ELEVATED CGRP LEVELS" 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.

[0002] 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 18 мая 2012 г., - 67858o730304.txt, а ее размер составляет 203920 байт.

Уровень техники

Область изобретения

[0003] Настоящее изобретение относится к открытию, что полипептиды, которые связываются с CGRP или рецептором CGRP и/или другие полипептиды, ингибирующие взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, например, антитела и фрагменты антител против CGRP или против рецептора CGRP или фрагменты CGRP или рецептора CGRP, ингибирующие взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, можно использовать для лечения или профилактики диареи, особенно диареи, связанной с состояниями или способами лечения, которые приводят к повышенным уровням CGRP. Типичные состояния и способы лечения, связанные с повышенным уровнем CGRP, описаны здесь. Настоящее изобретение, в частности, относится к способам ингибирования, профилактики или лечения диареи и/или поддержания электролитного баланса и уровней жидкости в толстой кишке субъекта, подвергающегося состоянию или лечению, связанному с повышенными уровнями CGRP, что приводит к диарее и/или повышенному выделению электролитов и жидкости из толстой кишки, включающим введение эффективного количества антитела или фрагмента

антитела против CGRP. Типичные состояния включают, например, функциональное расстройство кишечника и воспалительные заболевания кишечника, бактериальные или вирусные инфекции, и, конкретнее, желудочно-пищеводный рефлюкс, диспепсию, синдром раздраженного кишечника, синдром функциональной абдоминальной боли, дивертикулез и дивертикулит, болезнь Крона, илеит, коллагеновый колит, лимфоцитарный колит, неспецифический язвенный колит, рак или средства лечения рака, ассоциированные с повышенным CGRP и диареей, например, химиотерапию, облучение, медуллярную карциному щитовидной железы и рак ободочной и прямой кишки.

[0004] Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает способы скрининга полипептидов, например, антител против CGRP или рецептора CGRP и их фрагментов (в том числе Fab-фрагментов), обладающих специфичностью связывания с пептидом, связанным с геном кальцитонина человека (в дальнейшем "CGRP"), а также фрагментами CGRP или рецептора CGRP в животных моделях для определения их эффектов *in vivo*, особенно их способности противодействовать неблагоприятным побочным эффектам CGRP и лечить состояния, связанные с избытком CGRP, особенно CGRP-связанные состояния или способы лечения, ассоциированные с диареей. Настоящее изобретение также относится к способам скрининга заболеваний и расстройств, ассоциированных с повышенным уровнем CGRP, связанным с диареей, и специфических терапевтических схем профилактики или лечения заболеваний и расстройств, связанных с CGRP-ассоциированной диареей, путем введения указанных антител или их фрагментов по отдельности или в связи с другими активными соединениями.

Описание уровня техники

[0005] 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): 1261-68 (2001).

[0006] 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): 1261-68 (2001).

[0007] Мигрень является нервно-сосудистым расстройством, поражающим приблизительно 10% взрослого населения в США, и, как правило, сопровождающимся 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 β , связанного с геном кальцитонина, в кератиноцитах имеет значение для механизмов нейропатической и воспалительной боли.

[0008] 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_{1B}, 5-HT_{1D} и 5-HT_{1F}. 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.

[0009] 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.

[0010] Считается, что CGRP играет важную роль при многочисленных заболеваниях и нарушениях, включая, но не ограничиваясь мигренью, 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 заболевания или расстройства, связанные с CGRP, например, мигрень, головную боль и боль.

[0011] Помимо вышеупомянутых состояний, существует необходимость лечения других состояний или неблагоприятных побочных эффектов, связанных с повышенным уровнем CGRP. В связи с этим существуют некоторые неподтвержденные доказательства, о которых сообщается в литературе и которые свидетельствуют о том, что увеличение уровней CGRP может играть определенную роль в некоторых заболеваниях, связанных с диареей. Например, в Rolston et al. in Digestive Diseases and Sciences, (April 1989) 34(4):612-6, "Intravenous calcitonin gene-related peptide stimulates net water secretion in rat colon in vivo" сообщалось, что экзогенный пептид, связанный с геном кальцитонина, влияет на общее выделение воды и электролитов в тонком и толстом кишечнике крыс. Согласно этим сообщениям, в лигированных кишечных петлях внутривенное введение пептида, связанного с геном кальцитонина (CGRP), индуцировало секрецию жидкости толстой кишкой, но не оказывало влияния на тонкую кишку. Кроме того, сообщается, что при использовании методики односторонней перфузии наблюдали немедленную дозозависимую секрецию воды толстой кишкой крыс после внутривенного введения CGRP, а также повышение общей секреции натрия, калия и хлорида. Авторы предполагают связь этих наблюдений с возможной причастностью высоких концентраций CGRP в кровотоке при синдроме водянистой диареи, сопровождающем медуллярную карциному щитовидной железы.

[0012] Кроме того, Keates et al., Gastroenterology 114:956-64(1998), "CGRP Upregulation in dorsal root ganglia and ilea mucosa during Clostridium difficile toxin A-induced enteritis in mice" сообщили, что CGRP может играть определенную роль в диарее, опосредованной токсином A, и что антагонист CGRP существенно ингибировал диарею и воспаление,

опосредованные токсином А.

[0013] Кроме того, Picard et al. сообщили в International Journal of Radiation Biology, (2001), Vol. 77, No. 3, pp. 349-356, "Presence of protective role of afferent nerves in early intestinal mucosal alterations induced by abdominal irradiation in rats", что уровни CGRP увеличиваются после облучения абдоминальной области и особенно при лучевом энтерите - состоянии, характеризующемся диареей и другими воспалительными реакциями.

Сущность изобретения

[0014] Помимо дискомфорта для больного, диарея, особенно хроническая или тяжелая, может быть опасна для жизни, особенно у пожилых пациентов и младенцев и маленьких детей, а также у пациентов с такими заболеваниями как рак и вирусная инфекция, связанные с хронической диареей, которые могут существенно истощить уровни жидкости и электролитов. Существуют два основных типа диареи - острая и хроническая.

[0015] Диарея обычно классифицируется как состояние, при котором понос или жидкие испражнения происходят трижды в день или чаще. Она является частой причиной смерти в развивающихся странах и второй из наиболее распространенных причин смерти младенцев во всем мире. Потеря жидкости при диарее может вызвать обезвоживание и электролитный дисбаланс. В 2009 г. диарея, по оценкам, вызвала 1,1 миллиона смертей у людей в возрасте от 5 лет и старше и 1,5 миллиона смертей у детей в возрасте до 5 лет. Растворы для пероральной регидратации (ORS) с небольшим количеством электролитов и таблетки цинка являются предпочтительным способом лечения и, по оценкам, спасли 50 миллионов детей в последние 25 лет. Лечение с применением ORS следует начинать как можно раньше. В течение первого часа или двух после приема ORS часто происходит рвота, однако это редко мешает успешной регидратации, поскольку большая часть жидкости все же поглощается. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) рекомендует при рвоте у ребенка подождать пять или десять минут, а затем снова начать введение более медленно.

[0016] Растворы, изготавливаемые в домашних условиях, рекомендованные ВОЗ, включают соленые напитки (например, соленую рисовую воду или соленый йогуртовый напиток) и растительный или куриный суп с солью. При доступности можно добавить калиевую, а также цинковую добавку к такому раствору, изготавливаемому в домашних условиях, или принять их вместе с ним. Кроме того, рекомендуется, чтобы больные диареей, если они в состоянии, продолжали или возобновили прием пищи, так как это ускоряет восстановление нормальной функции кишечника и, как правило, укорачивает продолжительность диареи. Обычная чистая вода может быть одной из нескольких принимаемых жидкостей. Существуют доступные для приобретения растворы, например,

Pedialyte, и агентства по оказанию помощи, например, ЮНИСЕФ широко распространяют пакеты с солью и сахаром.

[0017] Помимо хронической и острой диареи, указанное состояние также подразделяется на различные типы, классификация которых основана на причине и проявлениях заболевания. Одним из типов является "секреторная диарея". Секреторная диарея означает усиление активной секреции или ингибирование всасывания. Структурные повреждения незначительны или отсутствуют. Наиболее распространенной причиной этого типа диареи является холерный токсин, который стимулирует секрецию анионов, особенно хлорид-ионов. При этом типе диареи жидкость, секретируемая кишечником, является изотонической по отношению к плазме даже при голодании. [8] <> Указанное состояние продолжается даже при отсутствии перорального приема пищи.

[0018] Вторым типом является "осмотическая диарея". Осмотическая диарея может возникать при слишком большом количестве воды в кишечнике. При питье растворов с чрезмерным количеством сахара или соли они могут извлекать воду из организма в кишечник и вызывать осмотическую диарею. Кроме того, осмотическая диарея также может возникать в результате нарушения пищеварения (например, заболевания поджелудочной железы или целиакии), при котором питательные вещества остаются в просвете и вытягивают воду. Или она может быть вызвана осмотическими слабительными (которые действуют, облегчая запор, путем вытягивания воды в кишечник). У здоровых людей осмотическую диарею и вздутие кишечника может вызвать слишком большое количество магния или витамина С или непереваренной лактозы. У человека с непереносимостью лактозы могут быть проблемы с поглощением лактозы после употребления необычайно большого количества молочных продуктов. У лиц с мальабсорбцией фруктозы избыточное потребление фруктозы может также вызвать диарею. Продукты с высоким содержанием фруктозы, которые также содержат много глюкозы, лучше всасываются и реже вызывают диарею. Сахароспирты, например, сорбит (часто встречается в продуктах, не содержащих сахара) с трудом всасывается и, в больших количествах, может привести к осмотической диарее.

[0019] Третьим типом диареи является "экссудативная диарея". Экссудативная диарея возникает при наличии крови и гноя в стуле. Это происходит при воспалительных заболеваниях кишечника, например, болезни Крона или язвенном колите, и инфекциях, например, инфекциях *E.coli*, или других формах пищевых отравлений.

[0020] Четвертым типом диареи является "диарея, связанная с моторикой". Диарея, связанная с моторикой, вызвана быстрым движением пищи через кишечник (гиперкинезией). Если пища через желудочно-кишечный тракт движется слишком быстро,

времени для поглощения достаточного количества питательных веществ и воды не хватает. Это состояние может быть связано с ваготомией или диабетической невропатией, или осложнением менструации. Гипертиреоз может приводить к гиперкинезии и к этому типу диареи. Диарею можно лечить с помощью антиперистальтических средств (например, лоперамида). Гиперкинезию можно наблюдать у людей, у которых удалены части кишечника, что сокращает общее время на всасывание питательных веществ.

[0021] Пятым типом диареи является "воспалительная диарея". Воспалительная диарея возникает при повреждении слизистой оболочки или щеточной каемки, что приводит к пассивной потере богатой белком жидкости и снижению способности всасывать эту потерянную жидкость. При этом типе диареи встречаются особенности всех трех других типов диареи. Она может быть обусловлена бактериальными инфекциями, вирусными инфекциями, паразитарными инфекциями или аутоиммунными проблемами, например, воспалительными заболеваниями кишечника. Она также может быть обусловлена туберкулезом, раком толстой кишки и энтеритом.

[0022] Родственным диарее состоянием является "дизентерия". Как правило, если в кале есть кровь, это не диарея, а дизентерия. Указанная кровь является следствием вторжения в ткани кишечника. Дизентерия является симптомом, в числе прочего, *Shigella*, *Entamoeba histolytica* и *Salmonella*.

[0023] Диарея чаще всего вызвана вирусным гастроэнтеритом, обусловленным ротавирусом, что составляет 40% случаев у детей до пяти лет. У путешественников, однако, преобладают бактериальные инфекции. Различные токсины, например, отравления грибами и лекарствами, также могут привести к острой диарее.

[0024] Как отмечалось выше, диарея может классифицироваться как хроническая или острая. "Хроническая" диарея может быть частью проявления ряда хронических заболеваний, влияющих на кишечник. Распространенные причины включают язвенный колит, болезнь Крона, микроскопический колит, целиакию, синдром раздраженного кишечника и нарушение всасывания желчных кислот.

[0025] Есть много причин инфекционной диареи, которые включают вирусы, бактерий и паразитов. Норовирус является наиболее распространенной причиной вирусной диареи у взрослых, а ротавирус - наиболее распространенной причиной у детей до пяти лет. Аденовирусы типа 40 и 41 и астровирусы вызывают значительное количество инфекций.

[0026] Бактерия *Campylobacter* является распространенной причиной бактериальной диареи, однако часто встречаются инфекции, вызываемые *Salmonellae*, *Shigellae* и некоторыми штаммами *Escherichia coli* (*E.coli*). У пожилых людей, особенно принимавших антибиотики для лечения несвязанных инфекций, тяжелая диарея часто вызывается

токсином, продуцируемым *Clostridium difficile*.

[0027] Диарею могут вызывать некоторые паразиты, например, простейшие *Giardia*, которые могут вызывать хронические инфекции, если их не диагностировать и не лечить такими препаратами, как метронидазол, а также *Entamoeba histolytica*.

[0028] Другие причины хронической диареи включают: недостаточность ферментов или аномалию слизистой, как при пищевой аллергии и пищевой непереносимости, например, целиакии (непереносимость глютена), непереносимости лактозы (непереносимость молочного сахара, распространенная у не-европейцев), и мальабсорбцию фруктозы, железодефицитную анемию, или нарушение функции кишечника вследствие неспособности всасывать витамин B12, потерю секрета поджелудочной железы, которая может быть связана с муковисцидозом или панкреатитом, структурные дефекты, например, синдром короткой кишки (хирургически удаленный кишечник) и лучевой фиброз, например, обычно возникающий после применения средств для лечения рака и других препаратов, в том числе агентов, используемых в химиотерапии; и некоторые лекарства, например, орлистат, который ингибирует всасывание жира.

[0029] Неспецифический язвенный колит характеризуется хроническим кровавым поносом и воспалением, в основном поражает дистальный отдел толстой кишки вблизи прямой кишки. Болезнь Крона обычно поражает довольно хорошо разграниченные сегменты толстой кишки и часто влияет на концевой отдел тонкой кишки.

[0030] Еще одной причиной диареи является синдром раздраженного кишечника (СРК), который обычно проявляется дискомфортом в животе, облегчающимся при дефекации, и аномалиями стула (диареей или запором) не менее 3 дней в неделю в течение 3 предшествующих месяцев. Симптомы СРК с преобладанием диареи можно контролировать с помощью комбинации изменений диеты, добавок, содержащих растворимые волокна, и/или таких лекарств как лоперамид или кодеин. Приблизительно у 30% пациентов с СРК с преобладанием диареи наблюдается нарушение всасывания желчных кислот, диагностируемое по аномальному тесту SeHCAT.

[0031] Другими причинами диареи являются хроническое употребление этанола, ишемическое заболевание кишечника, микроскопический колит, нарушение всасывания солей желчных кислот (первичная диарея желчных кислот), при котором избыток желчных кислот в толстой кишке вызывает секреторную диарею, гормон-секретирующие опухоли, (избыток (обычно обусловленный опухолью) некоторых гормонов (например, серотонина) может вызывать диарею).

[0032] Такие лекарства как лоперамид (имодиум) и субсалицилат висмута могут быть полезными при лечении некоторых состояний, сопровождающихся диареей, однако они

могут быть противопоказаны при определенных ситуациях.

[0033] Хотя антибиотики полезны при некоторых формах острой диареи, они обычно не используются, за исключением специфических ситуаций. Фактически антибиотики также могут вызвать понос, а антибиотик-ассоциированная диарея является наиболее распространенным побочным эффектом лечения антибиотиками общего действия.

[0034] Соединения висмута, например, (Pepto-Bismol) можно применять для лечения некоторых состояний, сопровождающихся диареей. Кроме того, для лечения некоторых состояний, сопровождающихся диареей, можно применять антиперистальтические агенты. Указанные агенты включают лоперамид. Иногда при лечении диареи используется кодеин для замедления перистальтики и прохождения фекалий по кишечнику. Кроме того, при хронической диарее, обусловленной мальабсорбцией желчных кислот, могут быть эффективны средства, связывающие желчные кислоты, например, холестирамин, колестипол и колесевелам.

[0035] Для лечения некоторых состояний, сопровождающихся хронической диареей, можно применять цинксодержащие добавки. Иногда для уменьшения продолжительности симптомов можно применять пробиотики.

[0036] Как упоминалось, вторым типом диареи является острая диарея. Наиболее распространенной причиной острой диареи является инфекция - вирусная, бактериальная и паразитарная. Бактерии также могут вызывать острое пищевое отравление. Третьей важной причиной острой диареи является начало применения нового медикамента.

[0037] Другие специфические причины острой диареи включают вирусный гастроэнтерит, который является наиболее частой причиной острой диареи во всем мире. Вирусный гастроэнтерит может возникать в спорадической форме (у одного человека) или в форме эпидемии (среди групп лиц). Спорадическая диарея, вероятно, вызывается несколькими различными вирусами и, как полагают, распространяется от человека к человеку. Наиболее распространенной причиной эпидемической диареи (например, на круизных судах) является инфицирование семейством вирусов, известных как калицивирусы, из которых наиболее распространенным является род норовирус (например, "агент Норфолк"). Калицивирусы передаются с пищей, загрязненной больными работниками сферы питания, или от человека к человеку.

[0038] Еще одной причиной острой диареи является пищевое отравление, вызванное токсинами, продуцируемыми бактериями. Токсины вызывают боль в животе (спазмы) и рвоту, а также вызывают секрецию большого количества воды тонкой кишкой, что приводит к диарее. Симптомы пищевого отравления обычно продолжаются менее 24 часов. У некоторых бактерий токсины продуцируются в пище до ее употребления, в то время как у

других бактерий токсины продуцируются в кишечнике после съедания пищи.

[0039] *Staphylococcus aureus* является примером бактерии, которая продуцирует токсины в пище до ее употребления. Как правило, продукты питания, загрязненные *Staphylococcus* (например, салат, мясо или бутерброды с майонезом) оставляют в замороженном состоянии при комнатной температуре на ночь. Стафилококки размножаются в пище и продуцируют токсины. *Clostridium perfringens* является примером бактерии, которая размножается в продуктах питания (обычно консервах) и продуцирует токсины в тонкой кишке после съедания зараженной пищи.

[0040] Еще одной причиной острой диареи является диарея путешественников, обычно вызванная патогенными штаммами бактерий *E. coli*. Иногда диарею у путешественников могут вызывать другие бактерии или паразиты (например, *Shigella*, *Giardia*, *Campylobacter*). Диарея, вызванная указанными другими организмами, обычно продолжается более 3 дней.

[0041] Еще одной причиной острой диареи является бактериальный энтероколит, возникающий, когда болезнетворные бактерии обычно проникают в тонкий и толстый кишечник и вызывают энтероколит (воспаление тонкой и толстой кишки). Бактериальный энтероколит характеризуется признаками воспаления (кровь или гной в стуле, лихорадка) и болью в животе и диареей. *Campylobacter jejuni* является наиболее распространенной бактерией, вызывающей острый энтероколит в США. Другие бактерии, которые вызывают энтероколит, включают *Shigella*, *Salmonella* и EPEC. Заражение указанными бактериями обычно происходит при питье загрязненной воды или употреблении зараженных пищевых продуктов, например, овощей, птицы и молочных продуктов.

[0042] Энтероколит, вызванный бактерией *Clostridium difficile*, часто обусловлен лечением антибиотиками. *Clostridium difficile* также является наиболее распространенной нозокомиальной инфекцией (инфекцией, приобретенной в больнице), вызывающей диарею. К сожалению, количество случаев инфекции также возрастает среди людей, которые не принимали антибиотики или не лежали в больнице.

[0043] Еще одной причиной острой диареи является *E. coli* O157:H7 - штамм *E. coli*, продуцирующий токсин, который вызывает геморрагический энтероколит (энтероколит с кровотечением). Известная вспышка геморрагического энтероколита в США была вызвана загрязненным говяжьим фаршем в гамбургерах (поэтому его еще называют гамбургерным колитом). Примерно у 5% пациентов, инфицированных *E. coli* O157:H7, особенно у детей, может развиваться гемолитический уремический синдром (ГУС), который может привести к почечной недостаточности. Некоторые данные свидетельствуют о том, что длительное применение антидиарейных агентов или антибиотиков может увеличить вероятность развития ГУС.

[0044] Еще одной причиной острой диареи является паразитарная инфекция, чаще за пределами США. Например, заражение *Giardia lamblia* происходит у людей, которые совершают поход в горы или путешествуют за границей; эта инфекция передается через зараженную питьевую воду. *Cryptosporidium* - еще один паразит, вызывающий диарею, который, как правило, передается через зараженную воду.

[0045] Еще одной причиной острой диареи является медикаментозная диарея. Лекарства, наиболее часто вызывающие диарею, - антациды и пищевые добавки, которые содержат магний. Другие классы лекарств, вызывающих диарею, включают: нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), лекарства для химиотерапии, антибиотики, лекарства для контроля нерегулярного сердечного ритма (противоаритмические средства) и лекарства против высокого давления крови, мизопростол (Cytotec), хинидин (Quinaglute, Quinidex), олсалазин (Dipentum), колхицин (Colchicine), метоклопрамид (Reglan) и цизаприд (Propulsid, мотилиум).

[0046] Распространенные причины хронической диареи включают синдром раздраженного кишечника, инфекционные заболевания, например, *Giardia lamblia*, СПИД, избыточный рост бактерий в тонкой кишке, постинфекционную диарею, при которой у пациента после острых вирусных, бактериальных или паразитарных инфекций развивается хроническая диарея (также называемая постинфекционным СРК), воспалительное заболевание кишечника (IBD), болезнь Крона и язвенный колит, и другие заболевания, вызывающие воспаление тонкой кишки и/или толстой кишки, что часто приводит к хронической диарее, рак толстой кишки, особенно в дистальной части толстой кишки, который может привести к разжиженному стулу, тяжелые запоры, нарушение всасывания углеводов (сахаров), например, лактазная недостаточность (также известная как непереносимость лактозы или молока), нарушение всасывания жиров, панкреатит или рак поджелудочной железы, заболевания слизистой тонкой кишки, препятствующие поглощению переваренного жира, например, целиакия, эндокринные заболевания, например, гипертиреоз или недостаточность гипофиза или надпочечников (болезнь Аддисона) и злоупотребление слабительными.

[0047] Как острая, так и хроническая диарея может вызывать неблагоприятные осложнения, включая обезвоживание организма в результате чрезмерной потери жидкости и электролитов из-за диареи. Обезвоживание распространено среди взрослых пациентов с острой диареей при больших объемах стула, в частности, когда потребление жидкости ограничивается вялостью или связано с тошнотой и рвотой, а также распространено у младенцев и маленьких детей, у которых развивается вирусный гастроэнтерит или бактериальная инфекция.

[0048] Умеренное и тяжелое обезвоживание может привести к ортостатической гипотензии с обмороком (обморок при стоянии за счет уменьшения объема крови, что вызывает падение артериального давления в положении стоя), снижению диуреза, резкой слабости, шоку, почечной недостаточности, спутанности сознания, ацидозу (избытку кислоты в крови) и даже коме.

[0049] Электролиты (минеральные вещества) также теряются с водой при длительной или тяжелой диарее, и может возникнуть недостаточность минеральных веществ или электролитов. Наиболее распространенной является недостаточность натрия и калия. Кроме того, могут развиваться аномалии хлорида и бикарбоната. Наконец, может возникнуть раздражение ануса из-за частого жидкого стула, содержащего раздражающие вещества.

[0050] Соответственно, существует потребность в эффективном способе профилактики или лечения различных форм диареи, например, описанных выше, и, в частности, острой или хронической диареи.

[0051] В соответствии с указанным, настоящее изобретение обеспечивает способы и лекарственные средства для лечения или профилактики диареи, ассоциированной с CGRP, включающие введение, по меньшей мере, одного полипептида, связывающего CGRP или рецептор CGRP, и/или полипептида, ингибирующего взаимодействие CGRP/рецептор CGRP. Указанные полипептиды включают антитела или фрагменты антител против CGRP или рецептора CGRP, а также фрагменты или варианты CGRP или рецептора CGRP, ингибирующие взаимодействие CGRP/рецептор CGRP. Указанные терапевтические средства эффективно лечат или предотвращают диарею, особенно диарею, возникающую в результате болезненных состояний или лечения, связанного с повышенными уровнями CGRP, например, повышенными уровнями в желудочно-кишечном тракте, и конкретнее - в толстой кишке.

[0052] Настоящее изобретение, в частности, относится к способам ингибирования, профилактики или лечения диареи и/или поддержания электролитного баланса и уровней жидкости в толстой кишке субъекта, подвергающегося состоянию (например, состоянию желудочно-кишечного тракта, раку, вирусному или инфекционному расстройству) или связанному с ним лечению, приводящему к повышенным уровням CGRP (например, лучевой терапии или химиотерапии), что приводит к диарее и/или повышенному выделению электролитов и жидкости из толстой кишки, включающим введение эффективного количества антитела или фрагмента антитела против CGRP. Указанные состояния включают, например, функциональные расстройства кишечника и воспалительные заболевания кишечника, диарею, вызванную бактериями или вирусами,

лучевую терапию и химиотерапию и, конкретнее, функциональные расстройства кишечника, выбранные из группы, состоящей из желудочно-пищеводного рефлюкса, диспепсии, синдрома раздраженного кишечника, синдрома функциональной абдоминальной боли, дивертикулеза и дивертикулита, воспалительных заболеваний кишечника, выбранных из группы, состоящей из болезни Крона, илеита, коллагенового колита, лимфоцитарного колита, неспецифического язвенного колита и рака, ассоциированного с диареей, например, медуллярной карциномы щитовидной железы и рака ободочной и прямой кишки.

[0053] Кроме того, настоящее изобретение относится к способам скрининга антител и их фрагментов (в том числе Fab-фрагментов), обладающих специфичностью связывания с пептидом, связанным с геном кальцитонина человека (в дальнейшем "CGRP"), или рецептором CGRP, или ингибирующим взаимодействие CGRP/рецептор CGRP в животных моделях для определения их эффектов *in vivo*, особенно их способности противодействовать неблагоприятным побочным эффектам CGRP и лечить или предотвращать диарею при состояниях или способах лечения, связанных с избытком CGRP.

[0054] Кроме того, настоящее изобретение включает способ оценки потенциальной эффективности *in vivo* антитела-кандидата против CGRP или фрагмента антитела или другого полипептида, ингибирующего взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, для лечения или профилактики диареи, включающий определение способности антитела или другого полипептида ингибировать диарею у грызунов при введении экзогенного CGRP по сравнению с грызунами, которым вводили CGRP в отсутствие антитела-кандидата против CGRP или фрагмента антитела или другого ингибитора полипептида.

[0055] Кроме того, настоящее изобретение включает способ введения антитела или фрагмента антитела против CGRP или рецептора CGRP, или другого полипептида, ингибирующего взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, для лечения неврологических и болевых состояний, характеризующихся повышенными уровнями CGRP и ассоциированных с диареей.

[0056] Кроме того, настоящее изобретение относится к лекарственным средствам для лечения состояния, ассоциированного с диареей, выбранного из желудочно-пищеводного рефлюкса, диспепсии, синдрома раздраженного кишечника, синдрома функциональной абдоминальной боли, дивертикулеза, дивертикулита, болезни Крона, илеита, коллагенового колита, лимфоцитарного колита, неспецифического язвенного колита, медуллярной карциномы щитовидной железы или рака ободочной и прямой кишки.

[0057] Кроме того, настоящее изобретение относится к способам оценки подходящей

терапевтической дозы или режима приема антитела-кандидата или фрагмента антитела в организме человека для профилактики или лечения CGRP-ассоциированной диареи на основе результатов, полученных на животной модели CGRP у грызунов.

[0058] Кроме того, настоящее изобретение относится к композициям для ингибирования, профилактики или лечения диареи и/или поддержания электролитного баланса и уровней жидкости в толстой кишке субъекта, подвергающегося состоянию, связанному с повышенными уровнями CGRP, что приводит к диарее и/или повышенному выделению электролитов и жидкости из толстой кишки, включающим введение эффективного количества антитела или фрагмента антитела против CGRP или рецептора CGRP и, необязательно, еще одного активного агента.

[0059] В связи с этим настоящее изобретение, в частности, относится к композициям для лечения или профилактики функциональных расстройств кишечника или воспалительных заболеваний кишечника, диареи, вызванной бактериями или вирусами, рака, ассоциированного с диареей, например, медуллярной карциномы щитовидной железы или рака ободочной и прямой кишки, и функциональных расстройств кишечника или воспалительных заболеваний кишечника, включающих, например, желудочно-пищеводный рефлюкс, диспепсию, синдром раздраженного кишечника, синдром функциональной абдоминальной боли, дивертикулез и дивертикулит, или воспалительного заболевания кишечника, выбранного из группы, состоящей из болезни Крона, илеита, коллагенового колита, лимфоцитарного колита и неспецифического язвенного колита, причем при указанных способах лечения вводят эффективное количество антитела или фрагмента антитела против CGRP в виде монотерапии или в комбинации с еще одним активным агентом.

[0060] В предпочтительных вариантах воплощения настоящее изобретение направлено на терапевтическое применение специфических антител и их фрагментов для лечения или профилактики диареи при заболеваниях или способах лечения, ассоциированных с повышенными уровнями CGRP, причем указанные антитела или фрагменты антител обладают специфичностью связывания с CGRP, в частности, антитела обладают желательной эпитопной специфичностью, высоким сродством или авидностью и/или функциональными свойствами. В других 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").

[0061] В еще одном предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения указанные анализы и способы лечения используют полноразмерные антитела и их Fab-фрагменты, ингибирующие продукцию цАМФ, зависимую от CGRP-альфа, CGRP-бета и CGRP крысы, для лечения или профилактики диареи при заболеваниях или состояниях, приводящих к повышенным уровням CGRP. В дополнительном предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения рассматриваются полноразмерные антитела и их Fab-фрагменты, снижающие расширение сосудов у реципиента после введения.

[0062] 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 диареи при заболеваниях или состояниях, приводящих к повышенным уровням CGRP, например, мигрени (с аурой или без нее), раке или опухолях, ангиогенезе, связанном с раковым или опухолевым ростом, ангиогенезе, связанном с выживанием рака или опухоли, потере массы тела, боли, гемиплегической мигрени, кластерных головных болях, мигренозной невралгии, хронических головных болях, головных болях напряжения, общей головной боли, "приливах", хронической пароксизмальной гемикрании, вторичных головных болях вследствие основной структурной проблемы в области головы или шеи, черепной невралгии, синусных головных болях (например, связанных с синуситом), и головных болях или мигрени, вызванных аллергией.

[0063] В еще одном варианте воплощения изобретения химерные или гуманизированные антитела и их фрагменты (в том числе Fab-фрагменты), способные связываться с CGRP, можно применять в рамках способов, направленных на уменьшение, лечение или профилактику диареи и висцеральной боли, 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.

[0064] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения указанные антитела и их гуманизированные варианты для лечения или профилактики диареи при заболеваниях или состояниях, приводящих к повышенным уровням CGRP, 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, 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, для лечения или профилактики диареи при заболеваниях или состояниях, приводящих к повышенным уровням CGRP.

[0065] Настоящее изобретение также рассматривает конъюгаты антител против CGRP и их связывающих фрагментов, конъюгированных с одной или более функциональных или обнаруживаемых молекул, для лечения или профилактики диареи при заболеваниях или состояниях, приводящих к повышенным уровням CGRP. Настоящее изобретение также рассматривает способы получения указанных химерных или гуманизированных антител против CGRP или против комплекса CGRP/CGRP-R и их связывающих фрагментов для лечения или профилактики диареи при заболеваниях или состояниях, приводящих к повышенным уровням CGRP. В одном варианте воплощения связывающие фрагменты включают, но не ограничиваются Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv-фрагментами, SMIP (иммунофармацевтическими средствами на основе низкомолекулярных соединений), камелизированными антителами, нанотелами и IgNAR.

[0066] Варианты воплощения настоящего изобретения относятся к применению антител против CGRP и их связывающих фрагментов для диагностики, оценки и лечения заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP или его аномальной экспрессией и приводящих к диарее вследствие повышенных уровней CGRP. Настоящее изобретение также относится к применению фрагментов антител против CGRP для диагностики, оценки и лечения заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP или его аномальной экспрессией, например, заболеваний или расстройств, при которых повышенные уровни CGRP в кишечнике приводят к диарее. Другие варианты воплощения настоящего изобретения относятся к продукции антител против 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

[0067] На Фигуре 1 представлены полинуклеотидные и полипептидные

последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab1.

[0068] На Фигуре 2 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab2.

[0069] На Фигуре 3 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab3.

[0070] На Фигуре 4 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab4.

[0071] На Фигуре 5 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab5.

[0072] На Фигуре 6 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab6.

[0073] На Фигуре 7 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab7.

[0074] На Фигуре 8 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab8.

[0075] На Фигуре 9 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab9.

[0076] На Фигуре 10 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab10.

[0077] На Фигуре 11 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab11.

[0078] На Фигуре 12 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab12.

[0079] На Фигуре 13 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab13.

[0080] На Фигуре 14 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab14.

[0081] На Фигуре 15 представлены данные твердофазного ИФА по связыванию CGRP-альфа, полученные согласно протоколу, описанному в Примере 1 ниже, для антител Ab1, Ab2, Ab3 и Ab4.

[0082] На Фигуре 16 представлены данные твердофазного ИФА по связыванию CGRP-альфа, полученные согласно протоколу, описанному в Примере 1 ниже для антител Ab5, Ab6, Ab7 и Ab8.

[0083] На Фигуре 17 представлены данные твердофазного ИФА по связыванию CGRP-альфа, полученные согласно протоколу, описанному в Примере 1 ниже для антител

Ab9, Ab10 и Ab14.

[0084] На Фигуре 18 представлены данные твердофазного ИФА по связыванию CGRP-альфа, полученные согласно протоколу, описанному в Примере 1 ниже для антител Ab11, Ab12 и Ab13.

[0085] На Фигуре 19 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой продукции цАМФ антителами Ab1, Ab2 и Ab4, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0086] На Фигуре 20 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой продукции цАМФ антителом Ab3, полученным в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0087] На Фигуре 21 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой продукции цАМФ антителами Ab5 и Ab6, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0088] На Фигуре 22 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой продукции цАМФ антителами Ab7, Ab8, Ab9 и Ab10, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0089] На Фигуре 23 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой продукции цАМФ антителами Ab11, Ab12 и Ab13, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0090] На Фигуре 24 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой продукции цАМФ антителом Ab14, полученным в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0091] На Фигуре 25 продемонстрировано ингибирование CGRP-бета-зависимой продукции цАМФ антителами Ab1, Ab2 и Ab3, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0092] На Фигуре 26 продемонстрировано ингибирование CGRP-бета-зависимой продукции цАМФ антителами Ab4, Ab5 и Ab6, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0093] На Фигуре 27 продемонстрировано ингибирование CGRP-бета-зависимой продукции цАМФ антителами Ab7 и Ab8, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0094] На Фигуре 28 продемонстрировано ингибирование CGRP-бета-зависимой продукции цАМФ антителами Ab9, Ab10 и Ab14, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0095] На Фигуре 29 продемонстрировано ингибирование CGRP-бета-зависимой

продукции цАМФ антителами Ab11, Ab12 и Ab13, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0096] На Фигуре 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.

[0097] На Фигуре 31 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителами Ab3 и Ab6, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0098] На Фигуре 32 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителами Ab7 и Ab8, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0099] На Фигуре 33 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителом Ab9, полученным в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[00100] На Фигуре 34 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителом Ab10, полученным в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[00101] На Фигуре 35 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителами Ab11 и Ab12, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[00102] На Фигуре 36 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителом Ab13, полученным в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[00103] На Фигуре 37 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителом Ab14, полученным в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[00104] На Фигуре 38 продемонстрировано ингибирование связывания CGRP, меченого радиоактивной меткой, с CGRP-R антителами Ab1-Ab13, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 6 ниже.

[00105] На Фигуре 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.

[00106] На Фигуре 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.

[00107] Фигура 41 содержит результаты экспериментов по проверке эффектов CGRP в организмах трансгенных мышей нестин/hRamp1. Данные показывают, что введение CGRP-альфа крысы вызывало диарею у трансгенных мышей нестин/hRAMP1 и что внутрибрюшинная инъекция Ab3 (30 мг/кг, ~ 24 ч до стимуляции CGRP) ингибировала диарею, вызванную интрацеребровентрикулярной (ICV) инъекцией CGRP-альфа крысы у трансгенных мышей нестин/hRAMP1.

[00108] Фигура 42 содержит результаты экспериментов, показывающих, что интрацеребровентрикулярная (ICV) инъекция CGRP-альфа человека вызывала диарею у мышей C57BL/6J в зависимости от дозы.

[00109] Фигура 43 содержит результаты экспериментов, показывающих, что внутрибрюшинная инъекция Ab3 (в/б 30 мг/кг, ~ 24 ч до стимуляции CGRP-альфа человека) ингибировала диарею, вызванную ICV-инъекцией CGRP-альфа человека у мышей C57/BL6J.

[00110] Фигура 44 содержит результаты экспериментов, показывающих, что Ab3 (30 мг/кг в/б инъекция ~ 24 ч до стимуляции CGRP-альфа человека) ингибировало диарею, вызванную в/б инъекцией CGRP-альфа человека у мышей C57/BL6J.

[00111] На Фиг. 45 показано предотвращение CGRP-индуцированной диареи с помощью Ab3 и Ab6 (оба введены в дозировке 10 мг/кг). У животных отрицательного контроля (получавших контрольное антитело и физиологический раствор с фосфатным буфером, левый столбик) диарея не проявлялась, а у 80% животных положительного контроля (получавших CGRP и антитело отрицательного контроля, темный столбик) диарея проявлялась. Введение Ab3 (столбик с диагональной штриховкой) и Ab6 (столбик с перекрестной штриховкой) снижало заболеваемость диареей на 40% и 60%, соответственно.

[00112] На Фиг. 46 показана общая масса фекалий при CGRP-индуцированной диарее для эксперимента, показанного на фиг. 45. Общая масса фекалий значительно увеличивается при введении CGRP (второй столбик) по сравнению с животными отрицательного контроля (первый столбик). Тем не менее, животные, получавшие Ab3 и Ab6, демонстрировали значительно сниженную общую массу фекалий (третий и четвертый столбики, соответственно). Указанные значения представляют собой среднее по всем животным в каждой тестируемой группе плюс или минус стандартную ошибку среднего (SEM).

[00113] На Фиг. 47 показано подтверждение предотвращения CGRP-индуцированной диареи с помощью Ab3 и Ab6 в дальнейшем эксперименте (оба антитела вводили в дозировке 30 мг/кг). Диарея отсутствовала у животных отрицательного контроля

(получавших контрольное антитело и физиологический раствор с фосфатным буфером, первый столбик), однако наблюдалась у 80% животных положительного контроля (второй, темный столбик). Заболеваемость диареей снижалась до 20% и 40%, соответственно, с помощью Ab3 (третий столбик, диагональные полосы) и Ab6 (четвертый столбик, перекрестная штриховка).

[00114] На Фиг. 48 показана общая масса фекалий при CGRP-индуцированной диарее для эксперимента, показанного на фиг. 47. Общая масса фекалий значительно увеличивается при введении CGRP (второй, темный столбик) по сравнению с животными отрицательного контроля (первый, светлый столбик). Тем не менее, у животных, получавших Ab6, значительно снижалась общая масса фекалий (четвертый столбик, клетчатая заливка), а у животных, получавших Ab3 (третий столбик, перекрестная штриховка) средняя общая масса фекалий была сопоставима с животными отрицательного контроля (левый, светлый столбик). Указанные значения представляют собой среднее по всем животным в каждой тестируемой группе плюс или минус стандартную ошибку среднего (SEM).

[00115]

Подробное описание предпочтительных вариантов воплощения

Определения

[00116] Следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными методологиями, протоколами, линиями клеток, видами или родами животных и реагентами, описанными здесь, поскольку все это может изменяться. Кроме того, следует понимать, что терминология используется здесь 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, к которой относится настоящее изобретение.

[00117] *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 Bachem (Торранс, штат Калифорния, США):

[00118] CGRP-альфа: ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF-NH₂ (SEQ ID NO: 281), где N-концевой фенилаланин амидирован;

[00119] CGRP-бета: ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKSNFVPTNVGSKAF-NH₂ (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 и последовательности CGRP других млекопитающих.

[00120] "Рецептор CGRP" здесь включает все эндогенные рецепторы, специфически связывающиеся с CGRP, включая CGRP человека и грызунов и CGRP других млекопитающих. Кроме того, "рецептор CGRP" включает мутантные формы (мутеины), сплайс-варианты, изоформы, ортологи, гомологи, фрагменты и варианты рецепторов CGRP, специфически связывающиеся с CGRP. В частности, рецептор CGRP здесь охватывает рецепторы CGRP человека, крысы, мыши и приматов, не являющихся человеком, и последовательности рецептора CGRP других млекопитающих.

[00121] "Ингибитор CGRP/рецептор CGRP" относится здесь к молекуле, предпочтительно полипептиду, например, антителу или фрагменту антитела, ингибирующей взаимодействие CGRP и его рецептора. Их неограничивающие примеры включают антитела и фрагменты антител, специфически связывающие CGRP или рецептор CGRP и фрагменты CGRP или рецептора CGRP.

[00122] "Диарея" относится к увеличению частоты стула или снижению оформленности стула (большей рыхлости стула). Хотя изменения в частоте дефекации и рыхлости стула могут происходить независимо друг от друга, указанные изменения часто происходят совместно. Диарею необходимо отличать от четырех других состояний. Хотя эти условия могут сопровождать диарею, они часто имеют различные причины и требуют другого лечения, чем диарея. Указанные другие состояния представляют собой: недержание кала, которое является неспособностью контролировать (удерживать) дефекацию до подходящего времени, например, до туалета, императивный позыв на дефекацию, который является внезапным позывом на испражнение, настолько сильным, что при недоступности туалета в данный момент возникает недержание, неполное испражнение, которое является ощущением, что в ближайшее время после дефекации необходим еще один акт дефекации, однако при повторном стуле имеют место проблемы с прохождением каловых масс, и дефекацию непосредственно после приема пищи.

[00123] Диарею можно определить в абсолютных или относительных терминах на основании частоты стула или консистенции (рыхлости) стула.

[00124] Частота дефекации. При абсолютной диарее наблюдается большее количество испражнений, чем у здоровых лиц. Таким образом, поскольку у здоровых лиц максимальное количество ежедневных актов дефекации составляет приблизительно три, диарею можно определить как количество актов дефекации более трех. При относительной диарее наблюдается большее количество испражнений, чем обычно. Так, если у человека, у которого, как правило, происходит один акт дефекации каждый день, количество актов дефекации увеличивается до двух в день, то имеет место диарея, даже если количество актов дефекации в день не превышает трех, то есть абсолютная диарея отсутствует.

[00125] Консистенция стула. Абсолютную диарею сложнее определить на основе консистенции стула, поскольку консистенция стула может значительно меняться у здоровых лиц в зависимости от их диеты. Так, у лиц, употребляющих большое количество овощей, стул более рыхлый, чем у лиц, употребляющих мало овощей. Жидкий или водянистый стул всегда является аномальным и считается диареей. Относительную диарею легче определить на основе консистенции стула. Таким образом, если стул более рыхлый, чем обычно, диагностируют диарею, несмотря на то, стул может быть в пределах нормы по консистенции.

[00126] Диарею обычно подразделяют на два типа - острую и хроническую. Острая диарея продолжается от нескольких дней до недели. Хроническую диарею можно определить несколькими способами, но она почти всегда продолжается более трех недель. Острая и хроническая диарея обычно обусловлены различными причинами, требуют различных диагностических тестов, и часто - различного лечения.

[00127] "Лечение или профилактика диареи, вызванной CGRP" означает, что указанное лечение, например, введение антитела или фрагмента против CGRP эффективно ингибирует или лечит диарею и/или обеспечивает надлежащие уровни электролитов и жидкости в толстой кишке субъекта, нуждающегося в этом, по сравнению с субъектом, не получившим лечения.

[00128] "CGRP-индуцированная диарея или CGRP-ассоциированная диарея" относится к состоянию или лечению, приводящему к повышенным уровням CGRP, особенно в желудочно-кишечном тракте и особенно в толстой кишке, в результате чего наблюдается одно- или многократная повышенная экскреция жидкости из толстой кишки, нарушение баланса электролитов и один или более актов дефекации с водянистым стулом (диарея).

[00129] "Лечение, приводящее к CGRP-ассоциированной диарее" относится здесь к любому лечению болезненного состояния, например, лучевой терапии, химиотерапии, медикаментозной терапии, приводящему к повышению уровней CGRP, ассоциированному с диареей.

[00130] "CGRP-ассоциированное заболевание или состояние" является любым заболеванием или состоянием, связанным с повышением уровней CGRP по сравнению с уровнями CGRP у здоровых особей.

[00131] 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 пloidности 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.

[00132] В одном варианте воплощения настоящего изобретения дрожжи, компетентные по спариванию, являются членом семейства *Saccharomycetaceae*, которое включает роды *Arxiozyma*; *Ascobotryozyma*; *Citeromyces*; *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*; *Rhodospiridium*; *Candida*; *Hansenula*; *Filobasium*; *Sporidiobolus*; *Bullera*; *Leucosporidium* и *Filobasidella*.

[00133] 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*.

[00134] Гаплоидная дрожжевая клетка: Клетка, содержащая одну копию каждого гена с его нормальной геномной (хромосомной) комплементарной цепью.

[00135] Полиплоидная дрожжевая клетка: Клетка, содержащая более одной копии каждого гена с его нормальной геномной (хромосомной) комплементарной цепью.

[00136] 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.

[00137] 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 кассеты. Такие тетраплоиды можно получить у *S.cerevisiae* путем селективного спаривания гомозиготных гетероталличных а/а и альфа/альфа-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] x 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.

[00138] Спаривание дрожжей: Процесс, при котором две гаплоидные дрожжевые клетки естественным образом сливаются, образуя одну диплоидную дрожжевую клетку.

[00139] 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.

[00140] 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 перечисленным: ZEO; G418; LYS3; MET1; MET3a; ADE1; ADE3; URA3; и т.п.

[00141] 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, (b) 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.

[00142] 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.

[00143] 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: энхансерного элемента, промотора и последовательности 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.

[00144] 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 рамке считывания. Однако энхансеры не должны быть непрерывными. Связывание осуществляют лигированием в подходящих сайтах рестрикции или, в качестве альтернативы, с помощью способа ПЦР/рекомбинации, известного специалистам в данной области техники (GatewayR Technology; Invitrogen, Карлсбад, штат Калифорния, США). Если такие сайты отсутствуют, в соответствии с общепринятой практикой используют синтетические олигонуклеотидные адаптеры или линкеры.

[00145] 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 репрессируемые 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.

[00146] 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.

[00147] 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.

[00148] 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.

[00149] 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 являться 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. Считается, что сигнальная последовательность пре-про-фактора альфа *S. cerevisiae* является эффективной 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 секретируемых 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 секретируемому белку, или могут являться нативной последовательностью секретируемого 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. *Therapeutic Apheresis* 2(4) 257 (1998).

[00150] 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.

[00151] 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.

[00152] 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, желательной 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.

[00153] 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.* 58:913-949; 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), pp. 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.

[00154] Att-сайты можно внедрить в интересующую исследователя последовательность путем лигирования интересующей последовательности с соответствующим вектором; получения ПЦР-продукта, содержащего сайты *att* В, за счет использования специфических праймеров; получения библиотеки кДНК, клонированной в соответствующем векторе, содержащем *att*-сайты; и т.п.

[00155] 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.

[00156] 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.

[00157] 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 дрожевой 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 путем сайт-специфической методологии.

[00158] 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 BIP (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.

[00159] Термины "желательный белок" или "желательное антитело" взаимозаменяемы и в целом относятся к исходному антителу, специфичному по отношению к мишени, т.е. 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 (SMIP) и такие фрагменты антител как Fab, Fab', F(ab')₂ и т.п. См. Streltsov VA, 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 AS, 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 SD, 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 DS, et al., Biopharmaceutical drug discovery using novel protein scaffolds, *Curr Opin Biotechnol.* 2006 Dec; 17(6):653-8. Epub 2006 Oct 19.

[00160] Например, антитела или антиген-связывающие фрагменты можно продуцировать с помощью генной инженерии. При этой методике, как и при других способах,

антитело-продуцирующие клетки сенсibilизируют 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.

[00161] Последовательности, кодирующие интересующие исследователя антитела, включают нативные последовательности, а также нуклеиновые кислоты, последовательность которых в силу вырожденности генетического кода не идентична последовательности описанных 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, описанные здесь, в частности, биологически активные фрагменты и/или фрагменты, соответствующие функциональным доменам. Известны методики мутагенеза клонированных генов *in vitro*. Настоящее изобретение 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.

[00162] Химерные антитела по изобретению для лечения или профилактики диареи при заболеваниях или состояниях, приводящих к повышенным уровням CGRP, можно

получить рекомбинантными способами путем объединения переменных областей легких и тяжелых цепей (VL и VH), полученных из антитело-продуцирующих клеток одного вида, с константными областями легких и тяжелых цепей из другого вида. Обычно в химерных антителах используют переменные 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, предусмотрено, что константные области человека для химерных антител по изобретению могут быть выбраны из константных областей IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgG5, IgG6, IgG7, IgG8, IgG9, IgG10, IgG11, IgG12, IgG13, IgG14, IgG15, IgG16, IgG17, IgG18 или IgG19.

[00163] 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 гиперпеременных петель переменных 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.

[00164] В дополнение к целым иммуноглобулинам (или их рекомбинантным аналогам), можно синтезировать фрагменты иммуноглобулинов, включающие сайт связывания эпитопа (например, Fab', F(ab')₂ 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 переменной области легкой цепи и переменной области тяжелой цепи. Кроме того, представляют интерес комбинации антител, например, димеров, 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.

[00165] 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.

[00166] 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.

[00167] "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 конструкт, 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.

[00168] "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.

[00169] 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 иницирующий 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.

[00170] "Амплификация" 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 ПЦР является прототипом амплификации нуклеиновых кислот, и использование ПЦР здесь следует рассматривать в качестве примера других подходящих методик амплификации.

[00171] 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 дальтон ("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 Fab-область; стеблевой фрагмент "Y"-конфигурации обозначают как FC-область.

Аминокислотная последовательность ориентирована от N-конца в верхней части "Y"-конфигурации до С-конца в нижней части каждой цепи. N-конец содержит переменную область, обладающую специфичностью к антигену, вызвавшему синтез антитела, и составляет приблизительно 100 аминокислот в длину; существуют небольшие различия между легкими и тяжелыми цепями и от антитела к антителу.

[00172] Переменная 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 γ , μ , α , δ и ϵ (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*, pp 1-18, W. B. Sanders (1980); Kohl, S., et al., *Immunology*, 48: 187 (1983)), в то время как переменная область определяет антиген, с которым взаимодействует антитело. Легкие цепи классифицируются как κ (каппа) или λ (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.

[00173] Выражение "переменная 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 переменный домен (VH), за которым следует ряд константных доменов. Каждая легкая цепь несет на одном конце переменный домен (VL), а на другом конце - константный домен; константный домен легкой цепи выровнен с первым константным доменом тяжелой цепи, а переменный домен легкой цепи выровнен с переменным доменом тяжелой цепи.

[00174] Выражения "область, определяющая комплементарность", "гиперпеременная область" или "CDR" относятся к одной или более гиперпеременных или определяющих комплементарность областей (CDR), присутствующих в переменных 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 гиперпеременные 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)).

[00175] 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

[00176] Настоящее изобретение в широком смысле относится к применению любого антитела или фрагмента антитела против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи при любом заболевании или состоянии, приводящем к повышенным уровням CGRP, вовлеченном в развитие диареи и/или повышенного выведения жидкости или электролита из толстой кишки. Состояния и терапевтические процедуры, приводящие к повышению CGRP, связанному с диареей, описаны в настоящей заявке.

[00177] В одном предпочтительном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV
SSRFKGS GSGTQFTLTISDLECAATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 1).

[00178] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит

последовательность, представленную ниже:
 QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV
 SSRFKGSGSGTQFTLTISDLECAATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAP
 SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
 T YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 2).

[00179] Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGINDNTYYA
 SWAKGRFTISRASSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 3).

[00180] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGINDNTYYA
 SWAKGRFTISRASSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVTVSSASTKGPSVFP
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
 VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP
 KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS
 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
 VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 4).

[00181] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 5; SEQ ID NO: 6; и SEQ ID NO: 7, соответствующие областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной 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, соответствующим областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной 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 вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00182] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00183] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 1 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 2.

[00184] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 4.

[00185] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител, включающие один или более из фрагментов антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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: 1; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 5; SEQ ID NO: 6; и SEQ ID NO: 7) вариабельной области

легкой цепи SEQ ID NO: 1; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 8; SEQ ID NO: 9; и SEQ ID NO: 10) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3.

[00186] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерным антителом против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является 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.

[00187] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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.

[00188] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи можно получить путем ферментативного гидролиза Ab1 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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

[00189] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 11).

[00190] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYS
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12).

[00191] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGIVIGINDNT
YYASWAKGRFTISRDNKSTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGTLLTVSS (SEQ
ID NO: 13).

[00192] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGIVIGINDNT
YYASWAKGRFTISRDNKSTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGTLLTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 14).

[00193] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 16; и SEQ ID NO: 17, соответствующие 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 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 цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00194] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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: 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.

[00195] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00196] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00197] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител, включающие один или более из фрагментов антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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: переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 11; переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 16; и SEQ ID NO: 17) переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 11; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 18; SEQ ID NO: 19; и SEQ ID NO: 20) переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13.

[00198] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированным антителом против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является 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.

[00199] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 11 и последовательность переменной 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.

[00200] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи можно получить путем ферментативного гидролиза Ab2 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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

[00201] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность переменной области легкой цепи которых содержит

последовательность, представленную ниже:
 QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
 PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID
 NO: 21).

[00202] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
 PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSV
 FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYS
 LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 22).

[00203] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGIVIGINDNT
 YYASWAKGRFTISRDNKSTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGTLLTVSS (SEQ
 ID NO: 23).

[00204] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGIVIGINDNT
 YYASWAKGRFTISRDNKSTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGTLLTVSSASTK
 GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
 FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
 KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 24).

[00205] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 25; SEQ ID NO: 26; и SEQ ID NO: 27, соответствующие областям, определяющим комплементарность (CDR, или

гипервариабельным областям) последовательности вариабельной 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 вариабельной 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 для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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 цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00206] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи. 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.

[00207] 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 21 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 22.

[00208] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 24.

[00209] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для лечения или

профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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: вариательной области легкой цепи SEQ ID NO: 21; вариательной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 25; SEQ ID NO: 26; и SEQ ID NO: 27) вариательной области легкой цепи SEQ ID NO: 21; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 29; и SEQ ID NO: 30) вариательной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23.

[00210] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерным антителом против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является 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.

[00211] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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 вариательной области легкой цепи SEQ ID NO: 21 и последовательность вариательной 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.

[00212] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи можно получить путем ферментативного гидролиза Ab3 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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

[00213] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QVFTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQSVYHNTYFAWYQQKPGQPPKQFIYDASTFASGV
 PSRFSGSGSGTQFTFTISGVQCNDAAAYYCFGSYDCTNGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 31).

[00214] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, _____, представленную _____, ниже:
 QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGQPPKQLIYDASTLASGV
 PSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCNDAAAYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAP
 SVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYAPREKVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDEST
 YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 32).

[00215] Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит _____, _____, представленную _____, ниже:
 QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCSVSGIDLSGYMNVWRQAPGKGLEWIGVIGINGATYYA
 SWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSS (SEQ ID NO: 33).

[00216] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит _____, _____, представленную _____, ниже:
 QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCSVSGIDLSGYMNVWRQAPGKGLEWIGVIGINGATYYA
 SWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSSASTKGPSVFP
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
 VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP
 KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS
 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
 VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 34).

[00217] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для лечения или

профилактики CGRP-ассоциированной диареи, включающие одну или более из 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, 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 цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00218] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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: 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.

[00219] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00220] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00221] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00222] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированным антителом против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является 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.

[00223] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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.

[00224] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи можно получить путем ферментативного гидролиза Ab4 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00225] Антитело Ab5

[00226] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWEYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 41).

[00227] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWEYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 42).

[00228] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYYMNWVRQAPGKGLEWVGIVIGINGATY
YASWAKGRFTISRDNKSTTVYLQMNSLR AEDTAVYFCARGDIWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 43).

[00229] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYYMNWVRQAPGKGLEWVGIVIGINGATY
YASWAKGRFTISRDNKSTTVYLQMNSLR AEDTAVYFCARGDIWGQGTLVTVSSASTKG
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYR

VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSSFLYSKLTVDKSRWQQ
 GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 44).

[00230] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00231] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи. 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.

[00232] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00233] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты

антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00234] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00235] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерным антителом против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является 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.

[00236] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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.

[00237] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи можно получить путем ферментативного гидролиза Ab5 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab5 или

их 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.

[00238] Антитело Ab6

[00239] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWEYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 51).

[00240] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWEYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQEKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAEQSGNSQESVTEQDSKIDSTY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 52).

[00241] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYIMNWVRQAPGKGLEWVGIVINGATY
YASWAKGRFTISRDNSTTKTVYLMNSLRADTAVYFCARGDIWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 53).

[00242] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYIMNWVRQAPGKGLEWVGIVINGATY
YASWAKGRFTISRDNSTTKTVYLMNSLRADTAVYFCARGDIWGQGTLVTVSSASTKG

PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 54).

[00243] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 гипервариабельным областям) последовательности вариабельной 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 гипервариабельным областям) последовательности вариабельной 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 вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00244] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи. 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 включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 53 или SEQ ID NO: 54.

[00245] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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

гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 51 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 52.

[00246] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 54.

[00247] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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: 51; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 56; и SEQ ID NO: 57) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 51; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 58; SEQ ID NO: 59; и SEQ ID NO: 60) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53.

[00248] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированным антителом против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является 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.

[00249] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab6, Fab-фрагмент 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.

[00250] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже),

Fab-фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи можно получить путем ферментативного гидролиза Ab6 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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

[00251] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV
SSRFKGS GSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 61).

[00252] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV
SSRFKGS GSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAP
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKST
YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 62).

[00253] Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
QEQLKESGGRLVTPGTSLTLCTVSGIDLSNHMQWVRQAPGKGLEWIGVVGINGRTY
YASWAKGRFTISRTSSTTVDLKMTRLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 63).

[00254] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит

последовательность, представленную ниже:

QEQLKESGGRLVTPGTS�TLCTVSGIDLSNHMQWVRQAPGKGLEWIGVVINGRTY
YASWAKGRFTISRTSSTTVDLKMTRLTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSSASTKGPS
VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP
PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 64).

[00255] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 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 цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00256] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению 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.

[00257] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00258] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00259] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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: 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.

[00260] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерным антителом против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является 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.

[00261] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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.

[00262] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи можно получить путем ферментативного гидролиза Ab7 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab7 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 Ab8

[00263] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные или гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 71).

[00264] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
SLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 72).

[00265] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNHMQWVRQAPGKGLEWVGTVGNGRT
YYASWAKGRFTISRDNSTTKTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 73).

[00266] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNHMQWVRQAPGKGLEWVG VVINGRT
 YYASWAKGRFTISRDN SKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGT LTVSSASTK
 GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
 LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYAST
 YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
 TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
 QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 74).

[00267] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 вариабельной 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 вариабельной 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 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 цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00268] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи. 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.

[00269] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 72.

[00270] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 74.

[00271] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00272] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированным антителом против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является 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.

[00273] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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.

[00274] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи можно получить путем ферментативного гидролиза Ab8 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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

[00275] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QVLTQTSPVSAAVGSTVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV SSRFRGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 81).

[00276] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QVLTQTSPVSAAVGSTVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV SSRFRGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 82).

[00277] Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIGLSSYYMQWVRQSPGRGLEWIGVIGSDGKTYYA
TWAKGRFTISKTSSTTVDLRMASLTTEDTATYFCTRGDWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO:
83).

[00278] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIGLSSYYMQWVRQSPGRGLEWIGVIGSDGKTYYA
TWAKGRFTISKTSSTTVDLRMASLTTEDTATYFCTRGDWGPGLTVTVSSASTKGPSVFP
LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 84).

[00279] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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 цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00280] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению для лечения или профилактики

CGRP-ассоциированной диареи 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 включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 83 или SEQ ID NO: 84.

[00281] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00282] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00283] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00284] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерным антителом против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является 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.

[00285] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab9, Fab-фрагмент для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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.

[00286] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи можно получить путем ферментативного гидролиза Ab9 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, например, Ab9 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 Ab10

[00287] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
 PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 91).

[00288] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
 PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS

VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGFSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 92).

[00289] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTY
YATWAKGRFTISRDN SKTTVY LQMNSLRAEDTAVYFCTRGDIWGQGTLVTVSS (SEQ
ID NO: 93).

[00290] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTY
YATWAKGRFTISRDN SKTTVY LQMNSLRAEDTAVYFCTRGDIWGQGTLVTVSSASTKG
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 94).

[00291] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00292] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, 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 лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 93 или SEQ ID NO: 94.

[00293] В другом варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00294] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00295] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00296] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированным антителом против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является 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.

[00297] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab10, Fab-фрагмент для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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.

[00298] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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

[00299] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QVLTQTASPVSPAVGSTVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 101).

[00300] Настоящее изобретение также включает химерные антитела, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи

которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QVLTQTASPVSPAUGSTVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV
 SSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAP
 SVFIFPPSDEQFKSGTASVVCFFNNFYPREAKVQWKVDNAFQSGNSQESVTEQDSKST
 YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 102).

[00301] Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QSLEESGGRLVTPGGSLTLTCTVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGVNGKRY
 ASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 103).

[00302] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QSLEESGGRLVTPGGSLTLTCTVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGVNGKRY
 ASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVTVSSASTKGPSVF
 PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
 TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS
 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
 VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 104).

[00303] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 105; SEQ ID NO: 106; и SEQ ID NO: 107, соответствующие областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной 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 гипервариабельным областям) последовательности вариабельной 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 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 цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00304] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи. 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.

[00305] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 101 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 102.

[00306] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 104.

[00307] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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: 101; вариабельной 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.

[00308] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерным антителом против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является 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.

[00309] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab11, Fab-фрагмент для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи включает последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 101 и последовательность варибельной 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.

[00310] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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

[00311] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность варибельной области легкой цепи которых содержит последовательность,

представленную

ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVITNCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID

NO: 111).

[00312] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLGSYDCSNNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 112).

[00313] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWVGIVGVNGKR
YYASWAKGRFTISRDNKSTTVYLMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ
ID NO: 113).

[00314] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWVGIVGVNGKR
YYASWAKGRFTISRDNKSTTVYLMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYAST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 114).

[00315] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 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, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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 цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00316] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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.

[00317] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00318] В другом варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00319] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной

диареи, 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.

[00320] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированным антителом против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является 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.

[00321] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab12, Fab-фрагмент для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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.

[00322] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи можно получить путем ферментативного гидролиза Ab12 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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

[00323] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие

специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
AIVMTQTPSSKSVPGDTVTINCQASESLYNNNALAWFQQKPGQPPKRLIYDASKLASG
VPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCGGYRSDSDGVAFAGGTEVVVKR (SEQ
ID NO: 121).

[00324] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

AIVMTQTPSSKSVPGDTVTINCQASESLYNNNALAWFQQKPGQPPKRLIYDASKLASG
VPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCGGYRSDSDGVAFAGGTEVVVKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 122).

[00325] Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
QSVEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFDFSSNAMWWVRQAPGKGLEWIGIYNGDGSTY
YASWVNGRFSISKTSSTTVTLQLNSLTVADTATYYCARDLDLWGPGLTVTVSS (SEQ ID
NO: 123).

[00326] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSVEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFDFSSNAMWWVRQAPGKGLEWIGCIYNGDGSTY
YASWVNGRFSISKTSSTTVTLQLNSLTVADTATYYCARDLDLWGPGLTVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 124).

[00327] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00328] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00329] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00330] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00331] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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: 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.

[00332] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерным антителом против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является 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.

[00333] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания к CGRP. По отношению к антителу Ab13, Fab-фрагмент для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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.

[00334] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи можно получить путем ферментативного гидролиза Ab13 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, например, Ab13 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 Ab14

[00335] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 131).

[00336] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
SLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 132).

[00337] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIQSDGKTY
YATWAKGRFTISRDNKTTVYLMNSLR AEDTAVYFCTR GDIWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 133).

[00338] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIQSDGKTY
YATWAKGRFTISRDNKTTVYLMNSLR AEDTAVYFCTR GDIWGQGTLVTVSSASTKG
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ

QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 134).

[00339] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 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 цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00340] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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 включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 133 или SEQ ID NO: 134.

[00341] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00342] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00343] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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.

[00344] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированным антителом против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является 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.

[00345] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab14, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131 и последовательность 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.

[00346] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи можно получить путем ферментативного гидролиза Ab14 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, 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.

[00347] В еще одном варианте воплощения фрагменты антител могут находиться в одной или более из следующих неограничивающих форм: Fab, Fab', F(ab')₂, Fv и форм одноцепочечных Fv-антител. В предпочтительном варианте воплощения антитела против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, описанные здесь, дополнительно включают последовательность константной каппа-области легкой цепи, включающую последовательность, представленную ниже:

[00348] VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES
VTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO: 283).

[00349] В еще одном предпочтительном варианте воплощения антитела против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, описанные здесь, дополнительно включают полипептидную последовательность константной гамма-1-области тяжелой цепи, включающую последовательность, представленную ниже:

[00350] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKCDKTHCTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYASTYRVSVLTVQLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 284).

[00351] В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение рассматривает выделенное антитело против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, включающее последовательность VH-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 VL-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 VH- или VL-полипептиде замещен остатком другой аминокислоты, что приводит к получению антитела против CGRP, специфически связывающего CGRP. Настоящее изобретение рассматривает гуманизированные и химерные формы указанных антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи. Химерные антитела 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.

[00352] В одном варианте воплощения настоящего изобретения, антитела или VH- или VL-полипептиды для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи происходят или выбраны из одной или более популяций В-клеток кролика до начала процесса гуманизации, упомянутого здесь.

[00353] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP и их фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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 для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи ингибируют связывание CGRP с CGRP-R и/или его дополнительными белками и/или мультимерами и/или оказывают антагонистическое действие на их биологические эффекты.

[00354] Как указано в абзаце [0127] здесь, антитела и их фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи можно модифицировать после трансляции путем добавления эффекторных групп, например, химических линкеров, обнаруживаемых молекул, например, флуоресцентных красителей, ферментов, субстратов, биолюминесцентных материалов, радиоактивных материалов и хемилюминесцентных групп, или функциональных групп, например, стрептавидина, авидина, биотина, цитотоксина, цитотоксического агента и радиоактивных материалов.

[00355] 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, карбоксиметилцеллюлозы, 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.

[00356] Указанный полимер может обладать любой молекулярной массой и быть разветвленным или неразветвленным. Для полиэтиленгликоля предпочтительная молекулярная масса составляет от приблизительно 1 кДа 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; Morpurgo et al., *Appl. Biochem. Biotechnol.* 56:59-72 (1996); Vorobjev et al., *Nucleosides Nucleotides* 18:2745-2750 (1999); и Caliceti et al., *Bioconjug. Chem.* 10:638-646 (1999), раскрытие каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00357] Существует несколько способов присоединения, доступных для специалистов в данной области техники, см., например, EP 0 401 384, 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.

[00358] 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 аминокислотным остаткам более чем одного типа (например, лизина, гистидина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, цистеина и их комбинациям).

[00359] В качестве альтернативы, антитела или их фрагменты для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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 0 322 094), который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Полинуклеотиды, кодирующие гибридные белки по изобретению, также входят в рамки изобретения.

[00360] 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 биолуминесцентные материалы включают люциферин и экворин, но не ограничиваются ими. Дополнительные типичные радиоактивные материалы включают иод-125 (¹²⁵I), углерод-14 (¹⁴C), серу-35 (³⁵S), тритий (³H) и фосфор-32 (³²P).

[00361] Что касается функциональных групп, типичные цитотоксические агенты включают метотрексат, аминоптерин, 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, стрептозотоцин, митомицин C, цис-дихлордиаминплатину (II) (DDP), цисплатин и

карбоплатин (параплатин), антрациклины, включая даунорубицин (ранее дауномицин), доксорубицин (адриамицин), деторубицин, карминомицин, идарубицин, эпирубицин, митоксантрон и бисантрон; антибиотики, например, дактиномицин (ранее актиномицин D), блеомицин, калихемицин, митрамицин и антрамицин (АМС)); и антимитотические агенты, например, алкалоиды барвинка, винкристин и винбластин, но не ограничиваются ими. Другие цитотоксические агенты включают паклитаксел (таксол), рицин, экзотоксин *Pseudomonas*, гемцитабин, цитохалазин В, грамицидин D, бромид этидия, эметин, этопозид, тенопозид, колхицин, дигидроксиантрациндион, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол, пурамицин, прокарбазин, гидроксимочевину, аспарагиназу, кортикостероиды, митотан (O,P'-(DDD)), интерфероны и смеси указанных цитотоксических агентов.

[00362] Дополнительные цитотоксические агенты включают такие химиотерапевтические агенты как карбоплатин, цисплатин, паклитаксел, гемцитабин, калихеамицин, доксорубицин, 5-фторурацил, митомицин С, актиномицин D, циклофосфамид, винкристин и блеомицин, но не ограничиваются ими. Токсичные ферменты растений и бактерий, например, рицин, дифтерийный токсин и токсин *Pseudomonas*, можно конъюгировать с гуманизированными 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)).

[00363] 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 (32P), скандий-47 (47Sc), медь-67 (67Cu), галлий-67 (67Ga), иттрий-88 (88Y), иттрий-90 (90Y), иод-125 (125I), иод-131 (131I), самарий-153 (153Sm), лютеций-177 (177Lu), рений-186 (186Re) или рений-188 (188Re), и альфа-излучающие агенты, например, астат-211 (211At), свинец-212 (212Pb), висмут-212 (212Bi) или -213 (213Bi) или актиний-225 (225Ac).

[00364] 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).

[00365] Варианты воплощения, описанные здесь, также включают варианты и

эквиваленты, практически гомологичные антителам, фрагментам антител, диателам, SMIP, 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 кислую 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.

[00366] 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.

[00367] 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 [0329] - [0350] ниже.

[00368] 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.

[00369] Настоящее изобретение также рассматривает антитела против CGRP, 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 вариабельной области легкой цепи и вариабельной 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

[00370] В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение рассматривает одно или более антител против CGRP человека или фрагменты указанных антител для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, специфически связывающиеся с тем(и) же линейным(и) или конформационным(и) эпитопом(ами) и/или конкурирующие за связывание с тем(и) же 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 линейным(и) или конформационным(и) эпитопом(ами) и/или конкурирует за связывание с тем(и) же линейным(и) или конформационным(и) эпитопом(ами) интактного полипептида CGRP человека или его фрагмента, что и Ab3, Ab6, Ab13, Ab12 или Ab14.

[00371] 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, для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи. В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерные или гуманизированные антитела против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи выбраны из Ab3, Ab6, Ab10, Ab13 или Ab14.

[00372] Предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения направлен на способы скрининга антител и их фрагментов (в том числе Fab-фрагментов), обладающих специфичностью связывания с пептидом, связанным с геном кальцитонина человека (в

дальнейшем "CGRP") в животных моделях для определения их эффектов *in vivo*, особенно их способности противодействовать неблагоприятным побочным эффектам CGRP, включая CGRP-ассоциированную диарею, и лечить состояния, связанные с избытком CGRP.

[00373] Еще один более специфический предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения включает способ оценки потенциальной эффективности *in vivo* антитела-кандидата против CGRP или фрагмента антитела, включающий определение способности антитела ингибировать CGRP-ассоциированную диарею по сравнению с грызунами, которым вводили CGRP в отсутствие антитела-кандидата против CGRP или фрагмента антитела.

[00374] Более специфический предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения включает способ оценки потенциальной эффективности *in vivo* антитела-кандидата против CGRP или фрагмента антитела при лечении неврологического состояния, характеризующегося повышенными уровнями CGRP.

[00375] Еще один более специфический предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения включает способ оценки потенциальной эффективности *in vivo* антитела-кандидата или фрагмента антитела против CGRP при лечении CGRP-ассоциированного расстройства, ассоциированного с диареей, например, мигрени или хронической 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, гемиплегической мигрени, кластерных головных болей, мигренозной невралгии, хронических головных болей, головных болей напряжения, общих головных болей, "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), головных болей или мигреней, вызванных аллергией, боли, воспалительной боли, боли в постоперационном разрезе, комплексного регионального болевого синдрома, раковой боли, боли при первичном или метастатическом раке костей, боли при переломе, хронической боли, боли при остеопорозном переломе, боли в результате ожога, остеопороза, подагрической боли в суставах, боли в животе, боли, связанной с кризисом серповидных клеток и другой ноцицептической боли, а также гепатоцеллюлярной карциномы, рака молочной железы, цирроза печени, нейрогенной боли, невропатической боли, ноцицептической боли, невралгии тройничного нерва, постгерпетической невралгии, фантомной боли конечностей, фибромиалгии, менструальной боли, овариалгии, рефлекторной симпатической дистрофии, нейрогенной боли, боли при остеоартрите или

ревматоидном артрите, боли в пояснице, диабетической невропатии, пояснично-крестцовом радикулите, или боли или висцеральной боли, связанной с: желудочно-пищеводным рефлюксом, диспепсией, синдромом раздраженного кишечника, раздраженной толстой кишкой, спазмами толстой кишки, слизистым колитом, воспалительным заболеванием кишечника, болезнью Крона, илеитом, язвенным колитом, почечной коликой, дисменореей, циститом, менструальным периодом, родами, менопаузой, простатитом, панкреатитом, почечной коликой, дисменореей, циститом, в том числе интерстициальным циститом (IC), операцией, связанной с кишечной непроходимостью, дивертикулитом, перитонитом, перикардитом, гепатитом, аппендицитом, колитом, холециститом, эндометриозом, хроническим и/или острым панкреатитом, инфарктом миокарда, боли в почках, плевральной боли, простатите, боли в области таза, травмы органа, хронической ноцицептивной боли, хронической невропатической боли, хронической воспалительной боли, фибромиалгии, приступа неконтролируемой боли и постоянной боли.

[00376] Еще один более специфический предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения включает способ применения антитела или фрагмента антитела против CGRP для лечения CGRP-ассоциированного расстройства, ассоциированного с диареей, где указанное состояние является раковой болью, возникающей в результате злокачественного новообразования или рака, предпочтительно выбранного из одного или более из: аденокарциномы железистой ткани, бластомы эмбриональной ткани органов, карциномы эпителиальной ткани, лейкоза в тканях, образующих клетки крови, лимфомы лимфатической ткани, миеломы костного мозга, саркомы в соединительной или опорной ткани, рака надпочечников, лимфомы, связанной со СПИДом, анемии, рака мочевого пузыря, рака костей, рака головного мозга, рака молочной железы, карциноидных опухолей, рака шейки матки, химиотерапии, рака толстой кишки, цитопении, рака эндометрия, рака пищевода, рака желудка, рака головы, рака шеи, гепатобилиарного рака, рака почки, лейкоза, рака печени, рака легких, лимфомы, болезни Ходжкина, неходжкинской лимфомы, опухолей нервной системы, рака ротовой полости, рака яичника, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака прямой кишки, рака кожи, рака желудка, рака яичка, рака щитовидной железы, рака уретры, рака костей, сарком соединительной ткани, рака костной ткани, рака кроветворных клеток, рака костного мозга, множественной миеломы, лейкоза, первичного или вторичного рака костей, опухолей, метастазирующих в кости, опухолей, прорастающих в нервы и полые органы, опухолей, расположенных вблизи нервных структур. Кроме того, в предпочтительном случае раковая боль включает висцеральную боль, предпочтительно висцеральную боль, возникающую в

результате рака поджелудочной железы и/или метастазов в брюшную полость. Кроме того, в предпочтительном случае раковая боль включает соматическую боль, предпочтительно соматическую боль, вызванную одним или более заболеваний из рака костей, метастазов в кости, послеоперационной боли, сарком соединительной ткани, рака костной ткани, рака кроветворных клеток костного мозга, множественной миеломы, лейкоза, первичного или вторичного рака костей.

[00377] Кроме того, еще один предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения относится к способам ингибирования, профилактики или лечения диареи и/или поддержания электролитного баланса и уровней жидкости в кишечнике субъекта, подвергающегося состоянию, связанному с повышенными уровнями CGRP, что приводит к диарее и/или повышенному выделению электролитов и жидкости из кишечника, включающим введение эффективного количества антитела или фрагмента антитела против CGRP.

[00378] В связи с этим еще один предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения, в частности, относится к способам для лечения или профилактики диареи у лиц с функциональными расстройствами кишечника или воспалительными заболеваниями кишечника, диареи, вызванной бактериями или вирусами, рака, ассоциированного с диареей, например, медуллярной карциномы щитовидной железы или рака ободочной и прямой кишки, и, конкретнее, функциональных расстройств кишечника или воспалительных заболеваний кишечника, включающих, например, желудочно-пищеводный рефлюкс, диспепсию, синдром раздраженного кишечника, синдром функциональной абдоминальной боли, дивертикулез и дивертикулит, или воспалительного заболевания кишечника, выбранного из группы, состоящей из болезни Крона, илеита, коллагенового колита, лимфоцитарного колита и неспецифического язвенного колита, причем при указанных способах лечения вводят эффективное количество антитела или фрагмента антитела против CGRP в виде монотерапии или в комбинации с еще одним активным агентом.

[00379] Другие предпочтительные варианты воплощения настоящего изобретения направлены на скрининговые анализы и терапевтическое применение специфических антител и их фрагментов, 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 VH, VL 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").

[00380] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения рассматривается способ снижения, лечения или профилактики заболеваний или нарушений, ассоциированных с CGRP, которые могут включать диарею в качестве неблагоприятного побочного эффекта, путем воздействия на указанную биологическую активность, опосредованную CGRP, тем самым избегая биологической активности, опосредованной связыванием CGRP с CGRP-R. Здесь представлен дополнительный нелимитирующий список заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP.

[00381] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитело против CGRP человека для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи является антителом, специфически связывающимся с теми же 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.

[00382] Настоящее изобретение также направлено на антитело против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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, но не ограничиваясь им.

[00383] В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение также направлено на выделенное антитело или фрагмент антитела против CGRP для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, включающее один или более из CDR, содержащихся в последовательностях VH-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 VL-полипептида, выбранных из: 1, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121, или 131, или их варианта.

[00384] В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитело против CGRP человека, обсуждаемое в двух предыдущих абзацах, включает, по меньшей мере, 2 области, определяющие комплементарность (CDR) в каждой вариабельной области легкой и тяжелой цепи, 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.

[00385] В предпочтительном варианте воплощения антитело против CGRP человека, обсуждаемое выше, включает, по меньшей мере, 2 области, определяющие комплементарность (CDR) в каждой вариабельной области легкой и тяжелой цепи, 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 или Ab6.

[00386] Настоящее изобретение также предусматривает, что одно или более из антител против CGRP человека, обсуждаемых выше для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, которые агликозилированы либо минимально гликозилированы, т.е. не содержат N-гликозилированных остатков, но могут включать некоторые O-гликозилированные остатки, например, остатки маннозы, и/или которые 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.

[00387] Кроме того, изобретение рассматривает одно или более антител против CGRP человека для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи, 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 и 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 и тяжелых цепей кролика по сравнению с другими последовательностями антител эмбрионального типа человека, содержащимися в библиотеке.

[00388] В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитело или фрагмент

против CGRP человека для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной диареи 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.

[00389] В еще одном варианте воплощения указанное заболевание, связанное с CGRP, которое может быть ассоциировано с диареей, выбрано из 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, гемиплегической мигрени, кластерных головных болей, 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), головных болей или мигреней, вызванных аллергией, боли, воспалительной боли, боли в послеоперационном разрезе, комплексного регионального болевого синдрома, раковой боли, боли при первичном или метастатическом раке костей, боли при переломе, хронической боли, боли при остеопорозном переломе, боли в результате ожога, остеопороза, подагрической боли в суставах, боли в животе, боли, связанной с кризисом серповидных клеток и другой ноцицептической боли, а также гепатоцеллюлярной карциномы, рака молочной железы, цирроза печени, нейрогенной боли, невропатической боли, ноцицептической боли, невралгии тройничного нерва, постгерпетической невралгии, фантомной боли конечностей, фибромиалгии, менструальной боли, овариалгии, рефлекторной симпатической дистрофии, нейрогенной боли, боли при остеоартрите или ревматоидном артрите, боли в пояснице, диабетической невропатии, пояснично-крестцового радикулита, или боли или висцеральной боли, связанной с: желудочно-пищеводным рефлюксом, диспепсией, синдромом раздраженного кишечника, раздраженной толстой кишкой, спазмами толстой кишки, слизистым колитом, воспалительным заболеванием кишечника, болезнью Крона, илеитом, язвенным колитом, почечной коликой, дисменореей, циститом, менструальным периодом, родами, менопаузой, простатитом, панкреатитом, почечной коликой, дисменореей, циститом, в том числе интерстициальным циститом (IC), операцией, связанной с кишечной непроходимостью, дивертикулитом, перитонитом, перикардитом, гепатитом, аппендицитом, колитом, холециститом, эндометриозом, хроническим и/или острым панкреатитом, инфарктом миокарда, боли в почках, плевральной боли, простатите, боли в области таза, травмы органа, хронической

ноцицептивной боли, хронической невропатической боли, хронической воспалительной боли, фибромиалгии, приступа неконтролируемой боли и постоянной боли.

[00390] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения указанное подвергаемое лечению заболевание, которое может быть ассоциировано с диареей, является раковой болью, возникающей в результате злокачественного новообразования или рака, предпочтительно выбранного из одного или более из: аденокарциномы железистой ткани, бластомы эмбриональной ткани органов, карциномы эпителиальной ткани, лейкоза в тканях, образующих клетки крови, лимфомы лимфатической ткани, миеломы костного мозга, саркомы в соединительной или опорной ткани, рака надпочечников, лимфомы, связанной со СПИДом, анемии, рака мочевого пузыря, рака костей, рака головного мозга, рака молочной железы, карциноидных опухолей, рака шейки матки, химиотерапии, рака толстой кишки, цитопении, рака эндометрия, рака пищевода, рака желудка, рака головы, рака шеи, гепатобилиарного рака, рака почки, лейкоза, рака печени, рака легких, лимфомы, болезни Ходжкина, неходжкинской лимфомы, опухолей нервной системы, рака ротовой полости, рака яичника, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака прямой кишки, рака кожи, рака желудка, рака яичка, рака щитовидной железы, рака уретры, рака костей, сарком соединительной ткани, рака костной ткани, рака кроветворных клеток, рака костного мозга, множественной миеломы, лейкоза, первичного или вторичного рака костей, опухолей, метастазирующих в кости, опухолей, прорастающих в нервы и полые органы, опухолей, расположенных вблизи нервных структур. Кроме того, в предпочтительном случае раковая боль включает висцеральную боль, предпочтительно висцеральную боль, возникающую в результате рака поджелудочной железы и/или метастазов в брюшную полость. Кроме того, в предпочтительном случае раковая боль включает соматическую боль, предпочтительно соматическую боль, вызванную одним или более заболеваний из рака костей, метастазов в кости, послеоперационной раковой боли, сарком соединительной ткани, рака костной ткани, рака кроветворных клеток костного мозга, множественной миеломы, лейкоза, первичного или вторичного рака костей.

[00391] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела или их фрагменты против CGRP человека, непосредственно или косвенно присоединенные к обнаруживаемой метке или терапевтическому агенту.

[00392] Настоящее изобретение также рассматривает одну или более из нуклеотидных последовательностей, приводящих к экспрессии антитела или фрагмента антитела против CGRP человека, 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 дополнительном предпочтительном варианте воплощения указанная дрожжевая клетка является диплоидной дрожжевой клеткой. В более предпочтительном варианте воплощения указанная дрожжевая клетка является клеткой дрожжей *Pichia*.

[00393] Настоящее изобретение также рассматривает способ лечения, включающий введение пациенту с заболеванием или состоянием, связанным с клетками, экспрессирующими CGRP, и приводящим к диарее, терапевтически эффективного количества, по меньшей мере, одного антитела или его фрагмента против CGRP человека, описанного здесь. Настоящее изобретение также предусматривает, что указанный способ лечения может включать введение двух или более антител против CGRP или их фрагментов, описанных 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 выбрано из мигрени, головной боли, потери массы тела, боли, 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.

[00394] В неограничивающем варианте воплощения настоящего изобретения другой терапевтический агент или схема лечения включает опиоиды, анальгетики, например, НПВП, таксол (паклитаксел) или его производные, соединения платины, например, карбоплатин или цисплатин, антрациклины, например, доксорубицин, алкилирующие агенты, например, циклофосфамид, антиметаболиты, например, 5-фторурацил или этопозид.

[00395] 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.

[00396] Антагонистическую по отношению к CGRP активность антител против CGRP по настоящему изобретению и их фрагментов, обладающих специфичностью связывания с CGRP, можно также описать по их силе связывания или их сродству 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 5×10^{-7} М, 10^{-7} М, 5×10^{-8} М, 10^{-8} М, 5×10^{-9} М, 10^{-9} М, 5×10^{-10} М, 10^{-10} М, 5×10^{-11} М, 10^{-11} М, 5×10^{-12} М, 10^{-12} М, 5×10^{-13} М или 10^{-13} М. Предпочтительно, антитела против CGRP и их фрагменты связывают CGRP с константой диссоциации, меньшей или равной 10^{-11} М, 5×10^{-12} М или 10^{-12} М. 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.

[00397] 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} с⁻¹, 5×10^{-5} с⁻¹, 10^{-5} с⁻¹, 5×10^{-6} с⁻¹, 10^{-6} с⁻¹, 5×10^{-7} с⁻¹ или 10^{-7} с⁻¹.

[00398] 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 и расстройств, ассоциированных с CGRP, в особенности, диареи. Здесь представлены неограничивающие примеры заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP.

Полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител против CGRP

Антитело Ab1

[00399] 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 1:

[00400] CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACA
GTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCTGG
TATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACTCTG
GCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCTCTC
ACCATCAGCGACCTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTAT
GATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA
CGT (SEQ ID NO: 141).

[00401] 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:

[00402] CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACA
GTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCTGG
TATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACTCTG
GCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCTCTC
ACCATCAGCGACCTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTAT
GATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA
CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAA
TCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAA
GTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTAC
AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCA
AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTG
AGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 142).

[00403] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3:

[00404] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTG
AAGTACCTGCACAGTCTCTGGACTCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTC
CGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTAATGATAA
CACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGCCTCGTCGA
CCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTC
TGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACCCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID

NO: 143).

[00405] 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:

[00406] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTG
ACACTCACCTGCACAGTCTCTGGACTCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTC
CGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTAATGATAA
CACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGCCTCGTCGA
CCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTC
TGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCC
ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC
ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC
GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTC
CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA
GAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTG
AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCA
TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC
CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC
AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA
GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA
CGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA
AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 144).

[00407] 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.

[00408] 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.

[00409] 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.

[00410] 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,

кодирующей последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 4.

[00411] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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

[00412] 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11:

[00413] CAAGTGCTGaccagctctccatcctcctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCAGGCC AGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagttcctaagCAActgatctatTCTACATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcggttcagtggtgagtgatctgggacagatttcactctccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCTAGGCAGTTATGATTGTAGTAGTGGTGAT TGTTTTGTTtgcggcgaggaaaccaaggtggaatcaaactgt (SEQ ID NO: 151).

[00414] 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:

[00415] CAAGTGCTGaccagctctccatcctcctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCAGGCC AGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagttcctaagCAActgatctatTCTACATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcggttcagtggtgagtgatctgggacagatttcactctca

ccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCTAGGCAGTTATGATTGTAGTAGTGGTGAT
TGT TTTTGT TtccggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgtACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCT
TCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGA
ATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAA
TCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG
CCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACG
CCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGG
GGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 152).

[00416] 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:

[00417] gaggtgcagctTgtggagtctgggggaggcttggccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTCtctggaC
TCGACCTCagtAGCTACTACATGCAAtgggtccgtcaggctccaggaaggggctggagtgggtcGGAGTCA
TTGGTATCAATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCcgattcaccatctccagaga
caattccaagACCACGGTGtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCtgtGCTAGAGGG
GACATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGC (SEQ ID NO: 153).

[00418] 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:

[00419] gaggtgcagctTgtggagtctgggggaggcttggccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTCtctggaC
TCGACCTCagtAGCTACTACATGCAAtgggtccgtcaggctccaggaaggggctggagtgggtcGGAGTCA
TTGGTATCAATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCcgattcaccatctccagaga
caattccaagACCACGGTGtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCtgtGCTAGAGGG
GACATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC
CCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG
GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGAC
CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG
CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT
GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG
ACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA
GTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGG
TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT

ACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGA
 ATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAG
 AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC
 CCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG
 GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
 AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGC
 AAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT
 GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGG
 TAAATGA (SEQ ID NO: 154).

[00420] 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.

[00421] 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.

[00422] 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 легкой цепи SEQ ID NO: 12; полинуклеотида SEQ ID NO: 153, 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.

[00423] 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.

[00424] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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

[00425] 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 21:

[00426] CAAGTGCTGaccagctctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCAGGCC AGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagttcctaagCAA ctgatctatTCTACATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcggttcagtggtcagtggtatctgggacagatttcactctca ccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaactattactgtCTAGGCAGTTATGATTGTAGTAGTGGTGAT TGTTTTGTTtctggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt (SEQ ID NO: 161).

[00427] 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:

[00428] CAAGTGCTGaccagctctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCAGGCC AGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagttcctaagCAA ctgatctatTCTACATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcggttcagtggtcagtggtatctgggacagatttcactctca ccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaactattactgtCTAGGCAGTTATGATTGTAGTAGTGGTGAT TGTTTTGTTtctggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgtACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCT TCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGA ATAACCTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAA TCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG CCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACG CCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGG GGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 162).

[00429] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23:

[00430] gaggtgcagctTgtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTcctggaC TCGACCTCagtAGCTACTACATGCAAtgggtccgtcaggctccaggaaggggctggagtgggtcGGAGTCA TTGGTATCAATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCcgattcaccatctccagaga caattccaagACCACGGTGtatcttcaaataaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCgtGCTAGAGGG GACATCtggggccaagggaacctcgctaccgtcTCGAGC (SEQ ID NO: 163).

[00431] 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:

[00432] gaggtgcagctTgtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTCtctggaC
TCGACCTCagtAGCTACTACATGCAAtgggtccgtcaggctccaggaaggggctggagtgggtcGGAGTCA
TTGGTATCAATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCcgattcaccatctccagaga
caattccaagACCACGGTGtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCtgtGCTAGAGGG
GACATCtggggccaaggaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC
CCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG
GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGAC
CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG
CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT
GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG
ACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA
GTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGG
TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT
ACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGA
ATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAG
AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC
CCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG
GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGC
AAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT
GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGG
TAAATGA (SEQ ID NO: 164).

[00433] 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.

[00434] 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.

[00435] 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.

[00436] 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.

[00437] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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 Ab3 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab3 или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab3 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 Ab4

[00438] 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31:

[00439] CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACA
GTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCTGG
TATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAACAACCTGATCTATGATGCATCCACTCTG
GCGTCTGGGGTCCCATCGCGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCTCTC
ACCATCAGCGGCGTGTCAGTGTAACGATGCTGCCGCTTACTACTGTCTGGGCAGTTAT
GATTGTAATAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA
CGT (SEQ ID NO: 171).

[00440] 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:

[00441] CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACA
GTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCTGG
TATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAACAACCTGATCTATGATGCATCCACTCTG
GCGTCTGGGGTCCCATCGCGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCTCTC
ACCATCAGCGGCGTGTCAGTGTAACGATGCTGCCGCTTACTACTGTCTGGGCAGTTAT
GATTGTAATAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA

CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAA
TCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAA
GTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTAC
AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCA
AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTG
AGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 172).

[00442] 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:

[00443] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTGCGCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTG
ACACTCACCTGTTCCGTCTCTGGCATCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTC
CGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTAATGGTGC
CACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGA
CCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTC
TGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCGGGCACCCCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID
NO: 173).

[00444] 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:

[00445] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTGCGCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTG
ACACTCACCTGTTCCGTCTCTGGCATCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTC
CGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTAATGGTGC
CACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGA
CCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTC
TGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCGGGCACCCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCC
ACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC
ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG
GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTC
CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA
GAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG
AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCA
TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC

CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC
 AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA
 GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
 ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
 GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
 AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGA
 CGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 174).

[00446] 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.

[00447] 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.

[00448] 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.

[00449] 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.

[00450] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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

[00451] 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 41:

[00452] CAAGTGCTGacccaggtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCAGGCC AGTCAGAGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagttcctaagCAA ctgatctatGATGCATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcggttcagtgagtggtatctgggacagatttcactctca ccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCTGGGCAGTTATGATTGTACTAATGGTGATT GTTTTGTttcgccggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt (SEQ ID NO: 181).

[00453] 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:

[00454] CAAGTGCTGacccaggtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCAGGCC AGTCAGAGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagttcctaagCAA ctgatctatGATGCATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcggttcagtgagtggtatctgggacagatttcactctca ccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCTGGGCAGTTATGATTGTACTAATGGTGATT GTTTTGTttcgccggaggaaccaaggtggaaatcaaacgtACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT CCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG CCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACG CCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGG GGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 182).

[00455] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43:

[00456] gaggtgcagctTgtggagctctgggggagccttggtccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTcttggA TCGACCTCagtGGCTACTACATGAACtggtccgtcaggctccaggaaggggctggagtggtcGGAGTCA TTGGTATTAATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCcgattcaccatctccagaga caattccaagACCACGGTGtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCgtGCTAGAGGG GACATCtggggccaaggaccctcgtcaccgtcTCGAGC (SEQ ID NO: 183).

[00457] 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: 44:

[00458] gaggtgcagctTgtggagctctgggggaggttggccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTCtctggaATCGACCTCagtGGCTACTACATGAACtgggtccgtcaggctccaggaaggggctggagtgggtcGGAGTCA TTGGTATTAATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCcgattcaccatctccagaga caattccaagACCACGGTGtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCtgtGCTAGAGGG GACATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC CCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG ACAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGG TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT ACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGA ATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAG AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGC AAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGG TAAATGA (SEQ ID NO: 184).

[00459] 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.

[00460] 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.

[00461] 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 легкой цепи SEQ ID NO: 42; полинуклеотида SEQ ID NO: 183, 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.

[00462] 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 альтернативном 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.

[00463] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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.

[00464] Антитело Ab6

[00465] 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 51:

[00466] CAAGTGCTGaccagtcctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCAGGCC AGTCAGAGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagttcctaagCAA ctgatctatGATGCATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcgtttcagtgagcagtggtctgggacagatttcactctca ccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCTGGGCAGTTATGATTGTACTAATGGTGATT GTTTTGTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt (SEQ ID NO: 191).

[00467] 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:

[00468] CAAGTGCTGaccagtcctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCAGGCC AGTCAGAGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagttcctaagCAA ctgatctatGATGCATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcgtttcagtgagcagtggtctgggacagatttcactctca ccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCTGGGCAGTTATGATTGTACTAATGGTGATT GTTTTGTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgtACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT CCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT

CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG
CCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACG
CCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGG
GGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 192).

[00469] 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:

[00470] gaggtgcagctTgtggagctctgggggaggttggtccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTCtctggaATCGACCTCagtGGCTACTACATGAACtgggtccgtcaggctccaggaaggggctggagtgggtcGGAGTCA TTGGTATTAATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCcgattcaccatctccagaga caattccaagACCACGGTGtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCtgtGCTAGAGGG GACATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGC (SEQ ID NO: 193).

[00471] 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: 54:

[00472] gaggtgcagctTgtggagctctgggggaggttggtccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTCtctggaATCGACCTCagtGGCTACTACATGAACtgggtccgtcaggctccaggaaggggctggagtgggtcGGAGTCA TTGGTATTAATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCcgattcaccatctccagaga caattccaagACCACGGTGtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCtgtGCTAGAGGG GACATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC CCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG AAAAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCGGACCCCTGAGG TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG TACGTGGACGGCGTGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT ACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGA ATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAG AAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG

GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA
 AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGC
 AAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT
 GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGG
 TAAATGA (SEQ ID NO: 194).

[00473] 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: 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.

[00474] 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.

[00475] 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; полинуклеотида SEQ ID NO: 192, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 52; полинуклеотида SEQ ID NO: 193, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53; полинуклеотида SEQ ID NO: 194, кодирующего последовательность 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.

[00476] 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 альтернативном 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.

[00477] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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

[00478] 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61:

[00479] CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACA

GTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATAATTACAACCTACCTTGCCTGG
TATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACTCTG
GCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCTCTC
ACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTAT
GACTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA
CGT (SEQ ID NO: 201).

[00480] 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:

[00481] CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACA
GTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATAATTACAACCTACCTTGCCTGG
TATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACTCTG
GCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCTCTC
ACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTAT
GACTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA
CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAA
TCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAA
GTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAGTCCCAGGAGAGTGTCAC
AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCA
AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTG
AGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 202).

[00482] 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:

[00483] CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGGTGCGCTGGTCACGCCTGGGACATCC
CTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGAATCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGG
GTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGAGTCGTTGGTATTAATGG
TCGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAACCTCGTC
GACCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGGCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATT
TCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTCGAGC (SEQ
ID NO: 203).

[00484] 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: 64:

[00485] CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGGTGCGCTGGTCACGCCTGGGACATCCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGAATCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGAGTCGTTGGTATTAATGGTCGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGGCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAACCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCA GAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 204).

[00486] 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.

[00487] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения

полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00488] 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 с 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.

[00489] 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 к CGRP. По отношению к антителу Ab7, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab7, включают или, в альтернативном 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.

[00490] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках

млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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

[00491] 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71:

[00492] CAAGTGCTGaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCAGGCC AGTCAGAGTGTTTAcAATTACAACCTTGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagttcctaagCAAc tgatctatTCTACATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcgtttcagtggcagtgatctgggacagatttactctcac catcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCTGGGCAGTTATGATTGTAGTACTGGTGATT GTTTTGTttcgggcgaggaaaccaaggtggaaatcaaacgt (SEQ ID NO: 211).

[00493] 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:

[00494] CAAGTGCTGaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCAGGCC AGTCAGAGTGTTTAcAATTACAACCTTGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagttcctaagCAAc tgatctatTCTACATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcgtttcagtggcagtgatctgggacagatttactctcac catcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCTGGGCAGTTATGATTGTAGTACTGGTGATT GTTTTGTttcgggcgaggaaaccaaggtggaaatcaaacgtACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT CCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA

TAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT
CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG
CCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACG
CCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGG
GGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 212).

[00495] 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:

[00496] gaggtgcagctTgtggagctctgggggaggcttggtccagcctggggggctcctgagactctcctgtgcaGTCTctggaA
TCGACCTCagtAACCACTACATGCAAtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtcGAGTC
GTTGGTATcAATGGTTCGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCcgattcaccatctccagag
acaattccaagACCACGGTGtatcttcaaataaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCTgtGCTAGAGGG
GACATCtggggccaagggaccctcgtaaccgtcTCGAGC (SEQ ID NO: 213).

[00497] 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:

[00498] gaggtgcagctTgtggagctctgggggaggcttggtccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTcTctggaA
TCGACCTCagtAACCACTACATGCAAtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtggtcGGAGTC
GTTGGTATcAATGGTCGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCcgattcaccatctccagag
acaattccaagACCACGGTGtatcttcaaataaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCtgtGCTAGAGGG
GACATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC
CCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGACACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG
GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGAC
CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG
CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT
GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG
ACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA
GTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGG
TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT
ACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGA
ATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAG
AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC

CCCATCCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG
GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGC
AAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT
GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGG
TAAATGA (SEQ ID NO: 214).

[00499] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00500] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00501] 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 с 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.

[00502] 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.

[00503] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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

[00504] 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81:

[00505] CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACA
GTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAATGTTTATAATAACAACCTACCTAGCCTGG
TATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACGTCCACTCTG
GCATCTGGGGTCTCATCGCGATTTCAGAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCTCTC
ACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTAT
GATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA
CGT (SEQ ID NO: 221).

[00506] 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:

[00507] CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACA
GTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAATGTTTATAATAACAACCTACCTAGCCTGG
TATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACGTCCACTCTG
GCATCTGGGGTCTCATCGCGATTTCAGAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCTCTC
ACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTAT
GATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA
CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAA
TCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAA
GTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC
AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCA
AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTG
AGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 222).

[00508] 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:

[00509] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTG
ACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAGTGGGTG
CGCCAGTCTCCAGGGAGGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTAGTGATGGTAA
GACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAGACCTCGTCGA
CCACGGTGGATCTGAGAATGGCCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTC
TGTAACAGAGGGGACATCTGGGGCCCCGGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 223).

[00510] 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:

[00511] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTG
 ACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAGTGGGTG
 CGCCAGTCTCCAGGGAGGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTAGTGATGGTAA
 GACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAGACCTCGTCGA
 CCACGGTGGATCTGAGAATGGCCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTC
 TGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCCCGGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC
 CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
 CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC
 GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTC
 CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA
 GAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG
 AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCA
 TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC
 CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC
 AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA
 GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
 ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
 GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
 AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA
 CGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 224).

[00512] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00513] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00514] 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.

[00515] 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.

[00516] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные

полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или НЕК 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 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

[00517] 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91:

[00518] CAAGTGCTGaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCAGGCC AGTCAGAATGTTTAcAATAACAACCTACCTAGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagttcctaagCAA ctgatctatTCTACATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcggttcagtggtcagtggtatctgggacagatttcactctca ccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaactattactgtCTGGGCAGTTATGATTGTAGTCGTGGTGATT GTTTTGTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt (SEQ ID NO: 231).

[00519] 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:

[00520] CAAGTGCTGaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCAGGCC AGTCAGAATGTTTAcAATAACAACCTACCTAGCCtggtatcagcagaaaccagggaaagttcctaagCAA ctgatctatTCTACATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcggttcagtggtcagtggtatctgggacagatttcactctca ccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaactattactgtCTGGGCAGTTATGATTGTAGTCGTGGTGATT GTTTTGTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgtACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT

CCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA
TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT
CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG
CCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACG
CCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGG
GGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 232).

[00521] 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:

[00522] gaggtgcagctTgtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTCtctggaA
TCGGCCTCagtAGCTACTACATGCAAtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtcGGAGTCA
TTGGTAGTGATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCegattcaccatctccagaga
caattccaagACCACGGTGtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCtgtACCAGAGGG
GACATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGC (SEQ ID NO: 233).

[00523] 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:

[00524] gaggtgcagctTgtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTCtctggaA
TCGGCCTCagtAGCTACTACATGCAAtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtcGGAGTCA
TTGGTAGTGATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCegattcaccatctccagaga
caattccaagACCACGGTGtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCtgtACCAGAGGG
GACATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC
CCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG
GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGAC
CAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG
CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT
GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG
ACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA
GTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGG
TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT
ACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGA
ATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAG

AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC
 CCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG
 GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
 AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGC
 AAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT
 GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGG
 TAAATGA (SEQ ID NO: 234).

[00525] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00526] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00527] 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 с 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 переменной 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 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 94.

[00528] 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.

[00529] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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

[00530] 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 переменной

области легкой цепи SEQ ID NO: 101:

[00531] CAGGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTCCAGCTGTGGGAAGCACA
GTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTTATTATAACAACCTACCTAGCCTGG
TATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACTCTG
GCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTC
ACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTAT
GATTGTAGTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA
CGT (SEQ ID NO: 241).

[00532] 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:

[00533] CAGGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTCCAGCTGTGGGAAGCACA
GTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTTATTATAACAACCTACCTAGCCTGG
TATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACTCTG
GCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTC
ACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTAT
GATTGTAGTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA
CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAA
TCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAA
GTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC
AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCA
AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTG
AGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 242).

[00534] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103:

[00535] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTGCGCTGGTCACGCCTGGAGGATCCCTG
ACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCGACGTCACCTAACTACTATATGCAATGGGTG
CGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTGTGAATGGTAA
GAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAAAACCTCGTCGA
CCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTC
TGTGCCAGAGGCGACATCTGGGGCCCGGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID
NO: 243).

[00536] 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:

[00537] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGAGGATCCCTG
 ACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCGACGTCACTAACTACTATATGCAATGGGTC
 CGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTGTGAATGGTAA
 GAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAAAACCTCGTCGA
 CCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTC
 TGTGCCAGAGGCGACATCTGGGGCCCCGGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCC
 ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC
 ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC
 GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTC
 CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA
 GAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTG
 AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCTCA
 TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC
 CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC
 AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA
 GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
 ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
 GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
 AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA
 CGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 244).

[00538] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00539] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00540] 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 с 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.

[00541] 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.

[00542] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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

[00543] 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111:

[00544] CAAGTGCTGacccagctccatcctcctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCGGGCC AGTCAGAGTGTTTAcTATAACAACCTACCTAGCCtggtatcagcagaaaccagggaagtctctaagCAAc tgatctatTCTACATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcgtttcagtggcagtggtatctgggacagatttcactctcac catcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCTGGGCAGTTATGATTGTAGTAATGGTGATT GTTTTGTttcgcgaggagaaccaaggtggaaatcaaacgt (SEQ ID NO: 251).

[00545] 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:

[00546] CAAGTGCTGacccagctccatcctcctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCGGGCC AGTCAGAGTGTTTAcTATAACAACCTACCTAGCCtggtatcagcagaaaccagggaagtctctaagCAAc tgatctatTCTACATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcgtttcagtggcagtggtatctgggacagatttcactctcac catcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCTGGGCAGTTATGATTGTAGTAATGGTGATT

GTTTTGTTttcggcgagggaaccaaggtggaaatcaaactACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT
 CCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA
 TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT
 CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG
 CCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACG
 CCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGG
 GGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 252).

[00547] 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:

[00548] gaggtgcagctTgtggagctctgggggaggcttggtccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTCtctggaA
 TCGACGTCACТААCTACTACATGCAAtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtcGGAGT
 CATTGGTGTGAATGGTAAGAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCcgattcaccatctccag
 agacaattccaagACCACGGTGtatcttcaaataaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCtgtGCCAGAG
 GGGACATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGC (SEQ ID NO: 253).

[00549] 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:

[00550] gaggtgcagctTgtggagctctgggggaggcttggtccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTCtctggaA
 TCGACGTCACТААCTACTACATGCAAtgggtccgtcaggctccagggaaggggctggagtgggtcGGAGT
 CATTGGTGTGAATGGTAAGAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCcgattcaccatctccag
 agacaattccaagACCACGGTGtatcttcaaataaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCtgtGCCAGAG
 GGGACATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCT
 TCCCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT
 GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGA
 CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCA
 GCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC
 GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTG
 TGACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGT
 CAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGA
 GGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACT
 GGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA
 GTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCT

GAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCG
 AGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG
 CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAA
 AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGA
 ACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACA
 GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCC
 GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCG
 GGTAATGA (SEQ ID NO: 254).

[00551] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00552] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00553] 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 с 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,

кодирующей последовательности 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 варибельной 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 варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 114.

[00554] 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.

[00555] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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

[00556] 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121:

[00557] GCCATCGTGATGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGAGACA
CAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTGAGAGTCTTTATAATAACAACGCCTTGGCCT
GGTTTCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCGCCTGATCTATGATGCATCCAAA
CTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTTCAGTGGCGGTGGGTCTGGGACACAGTTCACT
CTCACCATCAGTGGCGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTGGAGGCTAC
AGAAGTGATAGTGTTGATGGTGTGCTTTCGCCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAA
ACGT (SEQ ID NO: 261).

[00558] 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:

[00559] GCCATCGTGATGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGAGACA
CAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTGAGAGTCTTTATAATAACAACGCCTTGGCCT
GGTTTCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCGCCTGATCTATGATGCATCCAAA
CTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTTCAGTGGCGGTGGGTCTGGGACACAGTTCACT
CTCACCATCAGTGGCGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTGGAGGCTAC
AGAAGTGATAGTGTTGATGGTGTGCTTTCGCCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAA
ACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAA
ATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAA
AGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAGTCCCAGGAGAGTGTCA
CAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGC
AAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCT
GAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 262).

[00560] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123:

[00561] CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGAGGGATCCCTG
AAGTACCTGCACAGCCTCTGGATTCGACTTCAGTAGCAATGCAATGTGGTGGGTG
CGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCATTTAAcAATGGTGTG
CAGCACATACTACGCGAGCTGGGTGAATGGCCGATTCTCCATCTCCAAAACCTCGTC
GACCACGGTGACTCTGCAACTGAATAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACGTATT
ATTGTGCGAGAGATCTTGACTTGTGGGGCCCGGGCACCTCGTCACCGTCTCGAGC

(SEQ ID NO: 263).

[00562] 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:

[00563] CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGAGGGATCCCTG
ACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCTGACTTCAGTAGCAATGCAATGTGGTGGGTG
CGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCATTTAcAATGGTGATGG
CAGCACATACTACGCGAGCTGGGTGAATGGCCGATTCTCCATCTCCAAAACCTCGTC
GACCACGGTGACTCTGCAACTGAATAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACGTATT
ATTGTGCGAGAGATCTTGACTTGTGGGGCCCGGGCACCTCGTCACCGTCTCGAGCG
CCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAcCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG
GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG
GTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTA
CAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTG
GGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA
CAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCAG
CACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACA
CCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG
AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC
AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCT
CACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCA
ACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC
CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA
GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTG
GGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT
CCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC
AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC
AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 264).

[00564] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00565] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00566] 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 с 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.

[00567] 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,

кодирующей последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 124.

[00568] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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

[00569] 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 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131:

[00570] CAAGTGCTGaccagctccatcctcctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCAGGCC AGTCAGAATGTTTAcAATAACAACCTACCTAGCCtggtatcagcagaaaccagggaagtctctaagCAA ctgatctatTCTACATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcggttcagtggtgagtggtctgggacagatttcactctca ccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaactattactgtCTGGGCAGTTATGATTGTAGTCGTGGTGATT GTTTTGTttcggcggaggaaccaaggtggaaatcaaacgt (SEQ ID NO: 271).

[00571] 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:

[00572] CAAGTGCTGaccagctccatcctcctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcAATtgcCAGGCC AGTCAGAATGTTTAcAATAACAACCTACCTAGCCtggtatcagcagaaaccagggaagtctctaagCAA ctgatctatTCTACATCCACTCTGGCATCTgggggtcccatctcggttcagtggtgagtggtctgggacagatttcactctca

ccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcaacttattactgtCTGGGCAGTTATGATTGTAGTCGTGGTGATT
GTTTTGTTttcgccggaggaaccaaggtggaaatcaaacgtACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT
CCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA
TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT
CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG
CCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACG
CCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGG
GGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 272).

[00573] 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:

[00574] gaggtgcagctTgtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTCtctggaA
TCGGCCTCagtAGCTACTACATGCAAtgggtccgtcaggctccaggaaggggctggagtgggtcGGAGTCA
TTGGTAGTGATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCcgattcaccatctccagaga
caattccaagACCACGGTGtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCtgtACCAGAGGG
GACATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGC (SEQ ID NO: 273).

[00575] 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:

[00576] gaggtgcagctTgtggagtctgggggaggcttggtccagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcaGTCtctggaA
TCGGCCTCagtAGCTACTACATGCAAtgggtccgtcaggctccaggaaggggctggagtgggtcGGAGTCA
TTGGTAGTGATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCcgattcaccatctccagaga
caattccaagACCACGGTGtatcttcaaatgaacagcctgagagctgaggacactgctgtgtatTTCtgtACCAGAGGG
GACATCtggggccaagggaccctcgtcaccgtcTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC
CCCCTGGCAcCCTCCTCCaAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG
GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGAC
CAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAG
CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT
GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG
ACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA
GTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGaTCTCCCgGACCCCTGAGG
TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT

ACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGA
 ATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAG
 AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC
 CCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG
 GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
 AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGC
 AAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT
 GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGG
 TAAATGA (SEQ ID NO: 274).

[00577] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00578] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания с 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.

[00579] 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 с 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.

[00580] 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.

[00581] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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.

[00582] В одном варианте воплощения настоящее изобретение направлено на выделенный полинуклеотид, включающий полинуклеотид, кодирующий аминокислотную последовательность VH 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 VH-полипептида антитела кролика против CGRP, или путем консервативной аминокислотной замены.

[00583] В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение направлено на выделенный полинуклеотид, включающий полинуклеотидную последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность VL 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 VL-полипептида антитела кролика против CGRP, или путем консервативной аминокислотной замены.

[00584] В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение направлено на один или более 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.

[00585] 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 VL- или VH-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.

[00586] Кроме того, рассматриваются клетки-хозяева и векторы, включающие указанные полинуклеотиды.

[00587] 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 гиперпеременные 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

[00588] 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-специфичных 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

[00589] 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

[00590] В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение рассматривает способы получения антител против CGRP и их фрагментов. Способы получения антител против CGRP и их фрагментов, секретируемых 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.

[00591] Другие способы получения антител хорошо известны специалистам в данной области техники. Например, способы получения химерных антител в настоящее время

хорошо известны в данной области (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).

[00592] Аналогично, другие способы получения гуманизированных антител в настоящее время хорошо известны в данной области (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).

[00593] 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.

[00594] 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.

[00595] 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.

[00596] 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. Кодирующие последовательности тяжелой и легкой цепей могут содержать кДНК, геномную ДНК, или обе из них.

[00597] 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 (CHO), линию клеток NSO или линию клеток HEK293.

[00598] 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 клеток 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.

[00599] 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.

[00600] 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.

Скрининговый анализ

[00601] Настоящее изобретение также включает скрининговый анализ, предназначенный для помощи при выявлении заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP, и диареи у пациентов, проявляющих симптомы заболевания или расстройства,

ассоциированного с CGRP.

[00602] В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP по настоящему изобретению или их CGRP-связывающие фрагменты применяют для обнаружения присутствия CGRP в биологическом образце, полученном от пациента, проявляющего симптомы заболевания или расстройства, ассоциированного с CGRP и диареей. Наличие CGRP или его повышенные уровни (в особенности в толстой кишке) по сравнению с уровнями CGRP до заболевания в сопоставимом биологическом образце может быть благоприятным для диагностики заболевания или расстройства, ассоциированного с CGRP, ассоциированного с диареей.

[00603] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения обеспечивает диагностический или скрининговый анализ для помощи при диагностике заболеваний или расстройств, ассоциированных с CGRP у пациентов, проявляющих симптомы заболевания или расстройства, ассоциированного с CGRP, описанного в данном документе, включая анализ уровня экспрессии CGRP в биологическом образце от указанного пациента с использованием посттрансляционно модифицированного антитела против CGRP или его связывающего фрагмента. Антитело против CGRP или его связывающий фрагмент можно посттрансляционно модифицировать с целью внедрения обнаруживаемой группы, например, группы, представленной выше в настоящем раскрытии.

[00604] Уровень CGRP в биологическом образце определяют с использованием модифицированного антитела против CGRP или его связывающего фрагмента, как изложено здесь, и путем сравнения уровня CGRP в биологическом образце со стандартным уровнем CGRP (например, уровнем в нормальных биологических образцах). Опытный врач должен понимать, что среди нормальных биологических образцов может существовать некоторая изменчивость, и принимать это во внимание при оценке результатов. В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP по настоящему изобретению можно применять для установления связи уровней экспрессии CGRP с определенной стадией развития рака. Специалист в данной области техники может измерить CGRP у многочисленных субъектов с целью установления диапазонов экспрессии CGRP, соответствующих клинически определенным стадиям развития рака. Эти диапазоны позволят специалисту в данной области техники измерить CGRP у субъекта с диагнозом рака и установить связь уровней у каждого субъекта с диапазоном, соответствующим стадии указанного рака. Специалист в данной области техники должен понимать, что путем измерения CGRP у пациента через различные промежутки времени можно определить прогрессирование рака.

[00605] Вышеописанный анализ можно также применять для мониторинга заболевания

или расстройства, где уровень CGRP, полученный в биологическом образце от пациента, предположительно страдающего заболеванием или расстройством, ассоциированным с CGRP, сравнивают с уровнем CGRP в предшествующих биологических образцах от этого же пациента с целью выявления изменений уровня CGRP у указанного пациента, например, в связи со схемой лечения.

[00606] Настоящее изобретение также направлено на способ визуализации *in vivo*, обнаруживающий присутствие клеток, экспрессирующих CGRP, включающий введение диагностически эффективного количества диагностической композиции. Указанную визуализацию *in vivo* можно применять, например, для обнаружения или визуализации CGRP-экспрессирующих опухолей или метастазов, и в рамках планирования схемы для разработки эффективного протокола лечения рака. Протокол лечения может включать, например, одно или более из лучевой терапии, химиотерапии, цитокиновой терапии, генной терапии и терапии антителами, а также применения антитела против CGRP или его фрагмента.

[00607] Настоящее изобретение также обеспечивает набор для обнаружения связывания антитела против CGRP по изобретению с CGRP. В частности, указанный набор можно применять для обнаружения присутствия CGRP, специфически реагирующего с антителом против CGRP по изобретению или его иммунореактивным фрагментом. Указанный набор может также включать антитело, связанное с подложкой, вторичное антитело, реагирующее с антигеном, и реагент для обнаружения реакции вторичного антитела с антигеном. Такой набор может быть набором для твердофазного ИФА и при необходимости может содержать субстрат, первичные и вторичные антитела и любые другие необходимые реагенты, например, обнаруживаемые группы, субстраты ферментов и цветные реагенты, например, как описано здесь. Диагностический набор также может быть представлен в виде набора для иммуоблоттинга. Диагностический набор также может быть представлен в виде набора для хемилюминесцентного анализа (Meso Scale Discovery, Гейтерсберг, штат Мэриленд, США). Диагностический набор также может быть представлен в виде набора для лантаноидного обнаружения (PerkinElmer, Сан-Хосе, штат Калифорния, США).

[00608] Квалифицированный врач должен понимать, что биологический образец включает сыворотку, плазму, мочу, слюну, мазок со слизистых, плевральную жидкость, синовиальную жидкость и спинномозговую жидкость, но не ограничивается ими.

[00609]

[00610] Способы облегчения или уменьшения симптомов, или лечения, или предотвращения заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP

[00611] Антитела против CGRP, описанные здесь, или их фрагменты можно применять для облегчения или снижения симптомов или лечения или предотвращения заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP, в особенности диареи. 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 диарею, в модели грызунов, описанной в Примере 8)

[00612]

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

[00613] 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 диареи при состояниях, связанных с CGRP, в том числе 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, гемиплегических мигреней, кластерных головных болей, мигренозной невралгии, хронических головных болей, головных болей напряжения, общих головных болей, "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 мигреней, вызванных аллергией.

[00614] В 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 диареи, ассоциированной со следующим неограничивающим списком заболеваний и расстройств, связанных с CGRP: боли, воспалительной боли, боли в постоперационном разрезе, комплексного регионального болевого синдрома, раковой боли, боли при первичном или метастатическом раке костей, боли при переломе, хронической боли, боли при остеопорозном переломе, боли в результате ожога, остеопороза, подагрической боли в суставах, боли в животе, боли, связанной с кризисом серповидных клеток и другой ноцицептической боли, а также гепатоцеллюлярной карциномы, рака молочной железы, цирроза печени, нейрогенной боли, невропатической боли, ноцицептической боли, невралгии тройничного нерва, постгерпетической невралгии, фантомной боли конечностей, фибромиалгии, менструальной боли, овариалгии, рефлекторной

симпатической дистрофии, нейрогенной боли, боли при остеоартрите или ревматоидном артрите, боли в пояснице, диабетической невропатии, пояснично-крестцового радикулита, или боли или висцеральной боли, связанной с: желудочно-пищеводным рефлюксом, диспепсией, синдромом раздраженного кишечника, раздраженной толстой кишкой, спазмами толстой кишки, слизистым колитом, воспалительным заболеванием кишечника, болезнью Крона, илеитом, язвенным колитом, почечной коликой, дисменореей, циститом, менструальным периодом, родами, менопаузой, простатитом, панкреатитом, почечной коликой, дисменореей, циститом, в том числе интерстициальным циститом (IC), операцией, связанной с кишечной непроходимостью, дивертикулитом, перитонитом, перикардитом, гепатитом, аппендицитом, колитом, холециститом, эндометриозом, хроническим и/или острым панкреатитом, инфарктом миокарда, болью в почках, плевральной боли, простатите, боли в области таза, травмы органа, хронической ноцицептивной боли, хронической невропатической боли, хронической воспалительной боли, фибромиалгии, приступа неконтролируемой боли и постоянной боли, а также раковой боли, возникающей в результате злокачественного новообразования или рака, предпочтительно выбранного из одного или более из: аденокарциномы железистой ткани, бластомы эмбриональной ткани органов, карциномы эпителиальной ткани, лейкоза в тканях, образующих клетки крови, лимфомы лимфатической ткани, миеломы костного мозга, саркомы в соединительной или опорной ткани, рака надпочечников, лимфомы, связанной со СПИДом, анемии, рака мочевого пузыря, рака костей, рака головного мозга, рака молочной железы, карциноидных опухолей, рака шейки матки, химиотерапии, рака толстой кишки, цитопении, рака эндометрия, рака пищевода, рака желудка, рака головы, рака шеи, гепатобилиарного рака, рака почки, лейкоза, рака печени, рака легких, лимфомы, болезни Ходжкина, неходжкинской лимфомы, опухолей нервной системы, рака ротовой полости, рака яичника, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака прямой кишки, рака кожи, рака желудка, рака яичка, рака щитовидной железы, рака уретры, рака костей, сарком соединительной ткани, рака костной ткани, рака кроветворных клеток, рака костного мозга, множественной миеломы, лейкоза, первичного или вторичного рака костей, опухолей, метастазирующих в кости, опухолей, прорастающих в нервы и полые органы, опухолей, расположенных вблизи нервных структур. Кроме того, в предпочтительном случае раковая боль включает висцеральную боль, предпочтительно висцеральную боль, возникающую в результате рака поджелудочной железы и/или метастазов в брюшную полость. Кроме того, в предпочтительном случае раковая боль включает соматическую боль, предпочтительно соматическую боль, вызванную одним или более заболеваний из рака костей, метастазов в кости, послеоперационной боли, сарком

соединительной ткани, рака костной ткани, рака кроветворных клеток костного мозга, множественной миеломы, лейкоза, первичного или вторичного рака костей.

[00615] 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 следующего неограничивающего списка заболеваний и расстройств: рака или опухолей, ангиогенеза, ассоциированного с раковым или опухолевым ростом, ангиогенеза, ассоциированного с выживанием рака или опухоли.

[00616] 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 следующего неограничивающего списка заболеваний и расстройств: нейрогенной, невропатической или ноцицептической боли. 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 - боль при остеоартрите или ревматоидном артрите, боль в пояснице, диабетическая невропатия, пояснично-крестцовый радикулит и другая невропатическая боль.

[00617] 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 следующего неограничивающего списка заболеваний и расстройств: диареи и висцеральной боли, 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

[00618] В одном 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 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.

[00619] Fab-фрагменты 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 мг/кг 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.

[00620] Следует понимать, что концентрация антитела или Fab, вводимого данному пациенту, может быть больше или меньше, чем типичные вводимые концентрации, представленные выше в абзацах [0566] и [0567].

[00621] Специалист в данной области техники может экспериментально определить эффективную дозировку и частоту приема 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 pathophysiologic basis of drug therapy. Philadelphia, Pa., [etc.]: Lippincott Williams & Wilkins.

[00622] 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 вводят субъекту в фармацевтическом составе.

[00623] "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, внутрикожное, 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 инъекции, порошка, жидкости, геля, капель или других средств для введения.

[00624] В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, описанные здесь, или их CGRP-связывающие фрагменты, а также комбинации указанных антител или фрагментов антител можно необязательно вводить в комбинации с одним или более активных агентов. Такие активные агенты включают анальгетики, антигистаминные, жаропонижающие, противовоспалительные агенты, антибиотики, противовирусные и антицитокинные агенты. Активные агенты включают агонисты, антагонисты и модуляторы ФНО- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-18, IFN- α , IFN- γ , 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, бромфенак, карпрофен, целекоксиб, холинсалицилат магния, клофезон, ингибиторы COX-2, дексибупрофен, декскетопрофен, диклофенак, дифлунизал, дроксикам, этензамид, этодолак, эторикоксиб, физаламин, фенамовые кислоты, фенбуфен, фенопрофен, 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, оксaproзин, оксикамы, оксифенбутазон, парекоксиб, феназон, фенилбутазон, пироксикам, пирпрофен, профены, проглуметацин, производные пиразолидина, рофекоксиб, салицилсалицилат, салициламид, салицилаты, вещество Р, сульфинпиразон, сулиндак, супрофен, теноксикам, тиапрофеновую кислоту, толфенамовую кислоту, толметин и вальдекоксиб, но не ограничиваются ими.

[00625] 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, пириламин, терфенадин и траниласт, но не ограничиваются ими.

[00626] 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, цефтибутен, цефтизоксим, цефтобипрол, цефтриаксон, цефуроксим, цефалоспорины, хлорамфеникол, циластатин, ципрофлоксацин, кларитромицин, клиндамицин, флоксациллин, колистин, ко-тримоксазол, далфопристин, демеклоциклин, диклоксациллин, диритромицин, дорипенем, доксициклин, эноксацин, эртапенем, эритромицин, этамбутол, флуклоксациллин, фосфомицин, фуразолидон, фузидиевую кислоту, гатифлоксацин, гелданамицин, гентамицин, гликопептиды, гербимицин, имипенем, изониазид, канамицин, левофлоксацин, линкомицин, линезолид, ломефлоксацин, лоракарбеф, макролиды, мафенид, меропенем, метициллин, метронидазол, мезлоциллин, миноциклин, монобактамы, моксифлоксацин, мупироцин, нафциллин, неомицин, нетилмицин, нитрофурантоин, норфлоксацин, офлоксацин, оксациллин, окситетрациклин, паромомицин, пенициллин, пенициллины, пиперациллин, платензимицин, полимиксин В, полипептиды, пронтозил, пиразинамид, хинолоны, хинупристин, рифампицин, рифампин, рокситромицин, спектиномицин, стрептомицин, сульфацетамид, сульфаметизол, сульфаниламид, сульфасалазин, сульфисоксазол, сульфонамиды, тейкопланин, телитромицин, тетрациклин, тетрациклины, тикарциллин, тинидазол, тобрамицин, триметоприм, триметоприм-сульфаметоксазол, тролеандомицин, тровафлоксацин и ванкомицин, но не ограничиваются ими.

[00627] Активные агенты также включают альдостерон, беклометазон, бетаметазон, кортикостероиды, кортизол, кортизона ацетат, дезоксикортикостерона ацетат, дексаметазон, флудрокортизона ацетат, глюкокортикоиды, гидрокортизон, метилпреднизолон, преднизолон, преднизон, стероиды и триамцинолон. Кроме того, рассматривается любая подходящая комбинация указанных активных агентов.

[00628] "Фармацевтический наполнитель" или "фармацевтически приемлемый наполнитель" является носителем, обычно жидким, используемым для получения состава активного терапевтического агента. В одном варианте воплощения настоящего изобретения активный терапевтический агент является гуманизированным антителом, описанным здесь, или одним или более из его фрагментов. Наполнитель обычно не обеспечивает фармакологическую активность состава, хотя может обеспечивать химическую и/или биологическую стабильность и характеристики высвобождения. Типичные составы можно найти, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Ed.,

Grennaro, A., Ed., 1995, включенном в настоящий документ посредством ссылки.

[00629] Как используется здесь, термин "фармацевтически приемлемый носитель" или "наполнитель" включает всевозможные растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические и задерживающие всасывание агенты, которые являются физиологически совместимыми. В одном из вариантов воплощения носитель подходит для парентерального введения. В качестве альтернативы носитель может быть пригоден для внутривенного, внутривнутрибрюшинного, 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 комбинации с фармацевтически активными веществами хорошо известно в данной области техники. Кроме того, поскольку любая обычная среда или агент несовместима с активным соединением, рассматривается их использование в фармацевтических композициях по изобретению. В композиции можно также включать дополнительные активные соединения.

[00630] Фармацевтические композиции обычно должны быть стерильными и стабильными в условиях производства и хранения. Настоящее изобретение предусматривает, что фармацевтическая композиция присутствует в лиофилизированной форме. Композицию можно составить 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 поддерживать, например, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем использования ПАВ.

[00631] Во многих случаях предпочтительно включать в композицию изотонические агенты, например, сахара, многоатомные спирты, например, маннит, сорбит или хлорид натрия. Длительное поглощение композиций, вводимых путем инъекции, можно осуществить путем включения в композицию агента, замедляющего поглощение, например, солей моностеарата и желатина. Кроме того, в состав с замедленным 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, полиортоэфир, полимолочную кислоту и сополимеры полимолочной и полигликолевой кислот (PLG). Многие способы изготовления таких составов известны специалистам в данной области техники.

[00632] 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 комбинации.

[00633] Вышеуказанное описание различных иллюстрированных вариантов воплощения настоящего изобретения не следует считать исчерпывающим или жестко ограничивающим настоящее изобретение описанной 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.

[00634] 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.

[00635] 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.

[00636] 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 года, раскрытие которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00637] Некоторые аспекты информации, относящейся к гуманизации моноклональных антител кролика и предпочтительных модификаций последовательности для поддержания сродства 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.

[00638] 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 года (публикация патентной заявки США № US2006/0270045), раскрытие которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00639] 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.

[00640] 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.

[00641] 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

[00642] За счет применения протокола отбора антител, описанного здесь, можно получить расширенную панель антител.

Стратегия иммунизации

[00643] Кроликов иммунизировали CGRP 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 адъюванте 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 адъюванте 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

[00644] С целью выявления и описания характеристик антител, связывающихся с CGRP человека, растворы антител тестировали с помощью твердофазного ИФА. Вкратце, планшеты, покрытые нейтравидином (Thermo Scientific), покрывали CGRP человека, биотинилированным по N-концу (50 л на лунку, 1 г/мл), разбавленным буфером для твердофазного ИФА (0,5% желатина рыбьей кожи в PBS, pH 7,4) в течение приблизительно 1 часа при комнатной температуре или, в качестве альтернативы, в течение ночи при 4 °C. Затем планшеты дополнительно блокировали буфером для твердофазного ИФА в течение 1 часа при комнатной температуре и промывали буфером для промывки (PBS, 0,05% твин-20). Протестированные образцы сыворотки последовательно разбавляли буфером для твердофазного ИФА. Пятьдесят микролитров разбавленных образцов сыворотки переносили в лунки и инкубировали при комнатной температуре в течение часа. 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 TMB в течение двух минут 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)

[00645] 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, MgCl₂, pH 7,3, 1 мг/мл блокатора A, Meso Scale Discovery) в 96-луночном круглодонном полистирольном планшете (Costar). В указанный планшет добавляли CGRP человека (конечная концентрация 10 нг/мл), разбавленный буфером для анализа MSD, и инкубировали в течение часа 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 в PBS) и промывали ростовой средой (MEM, 10% FBS, антибиотики) посредством центрифугирования. Количество клеток доводили до 2 миллионов клеток на 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 человека в течение одного часа 20 мкл раствора, содержащего клетки, переносили в планшет для анализа цАМФ. Все образцы тестировали в двух повторностях с соответствующими контролями. Десять микролитров клеток добавляли в лунки и инкубировали планшет в течение 30 минут 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 микролитров стоп-раствора и инкубировали планшет в течение часа 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 IC₅₀.

Сбор ткани

[00646] После установления приемлемых титров кролика(ов) умерщвляли. Селезенку, лимфатические узлы и цельную кровь собирали и обрабатывали следующим образом:

[00647] 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 минут, 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 часов и хранили в жидком азоте.

[00648] 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 наслаивали на 8 мл Lympholyte Rabbit (Cedarlane) в 45-мл конической пробирке (Corning) и центрифугировали в течение 30 минут 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 минут 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

[00649] 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 °С 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 минут при 2000 об/мин, супернатант удаляли. Клетки ресуспендировали в 10 мл свежей среды. Плотность и жизнеспособность клеток определяли с помощью трипанового синего.

a) Следующий протокол использовали для Ab1 и Ab13

[00650] Клетки предварительно смешивали с биотинилированным CGRP человека следующим образом. Клетки повторно промывали и ресуспендировали из расчета 1×10^7 клеток/80 мкл среды. Биотинилированный CGRP человека добавляли к суспензии клеток в конечной концентрации 5 мкг/мл и инкубировали в течение 30 минут при 4 °С. Несвязанный биотинилированный CGRPα человека удаляли посредством двух 10-мл промывок с использованием PBF [PBS, не содержащий Ca/Mg (Hyclone), 2 mM этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), 0,5% бычьего сывороточного альбумина (BCA) (Sigma - без биотина)]. После второй промывки клетки ресуспендировали из расчета 1×10^7 клеток/80 мкл PBF и добавляли к суспензии клеток 20 мкл стрептавидиновых гранул MACS® (Miltenyi Biotec, Оберн, штат Калифорния, США) на 1×10^7 клеток. Клетки и гранулы инкубировали при 4°C в течение 15 минут и однократно промывали 2 мл PBF на 1×10^7 клеток.

b) Следующий протокол использовали для Ab4, Ab7, Ab9 и Ab11:

[00651] Биотинилированный CGRPα человека предварительно добавляли к

стрептавидиновым гранулам следующим образом. Семьдесят пять микролитров стрептавидиновых гранул (Milteny Biotec, Оберн, штат Калифорния, США) смешивали с huCGRP α , 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 α 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.

[00652] Как для протокола а), так и b) 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 (Milteni). 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.

[00653] Для получения информации об уровнях диссеминирования культуры провели предварительный скрининг клеток. Планшеты засеивали 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% CO₂.

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

[00654] Для идентификации лунок, продуцирующих антитела против CGRP α 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 α 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

[00655] 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

[00656] Планшеты, содержавшие интересующие лунки, извлекали из холодильника при -70 °С, клетки из каждой лунки восстанавливали путем пяти промывок 200 микролитрами 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 антитела, магнитные гранулы, покрытые стрептавидином (M280 Dynabeads, Invitrogen) покрывали комбинацией CGRP α человека, биотинилированного по N- и C-концу. Отдельные партии биотинилированного CGRP α человека оптимизировали путем последовательного разбавления. Затем сто микролитров, содержащие приблизительно 4×10^7 покрытых гранул, смешивали с ресуспендированными клетками. К указанной смеси добавляли 15 микролитров H&L IgG-FITC козы против антител кролика (Jackson ImmunoResearch), разбавленных средой 1:100.

[00657] Двадцать микролитров клеток/гранул/суспензии H&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 минут в инкубаторе при 37 °С и 4% CO₂ в темноте.

[00658] 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 °С.

Аmplification и секвенирование последовательностей антител из антиген-специфических В-клеток

[00659] 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

[00660] 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

[00661] С целью оценки способности рекомбинантных экспрессируемых антител связываться с CGRP α 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 α (1 мкг/мл в PBS) в течение 2 часов. Затем планшеты, покрытые CGRP α , 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 одного часа. Затем удаляли блокирующий раствор и инкубировали планшеты с последовательными разведениями тестируемого антитела в течение приблизительно одного часа. В конце указанного инкубирования планшет трижды промывали буфером для промывки и дополнительно инкубировали с раствором вторичного антитела (конъюгированный с пероксидазой и аффинно очищенный F(ab')₂-фрагмент антитела козы против IgG человека, специфичный по отношению к Fc-фрагменту (Jackson ImmunoResearch) в течение приблизительно 45 минут и трижды промывали. В этот момент добавляли раствор субстрата (TMB-субстрат пероксидазы, BioFX) и инкубировали в

течение 3-5 минут в темноте. Реакцию останавливали добавлением раствора HCl (0,5 M) и считывали планшет при 450 нм с использованием планшет-ридера.

[00662] Результаты: Фигуры 15-18 демонстрируют, что антитела Ab1-Ab14 против CGRP связывались с CGRP α и распознавали его.

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

[00663] Для оценки способности рекомбинантного экспрессируемого антитела ингибировать CGRP α -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, MgCl₂, pH 7,3, 1 мг/мл блокатора A, Meso Scale Discovery) в 96-луночном круглодонном полистирольном планшете (Costar). В указанный планшет добавляли CGRP α человека (конечная концентрация 25 нг/мл), разбавленный буфером для анализа MSD, и инкубировали в течение одного часа при 37 °C. Согласно указаниям изготовителя аналитического набора использовали соответствующие контроли. Клетки нейрозпителиомы человека (SK-N-MC, ATCC) отделяли с помощью раствора ЭДТА (5 mM) и промывали ростовой средой (MEM, 10% FBS, антибиотики) посредством центрифугирования. Количество клеток довели до 2 миллионов клеток на мл в буфере для анализа и добавляли IBMX (3-изобутил-1-метилксантин, 50 mM, Sigma) до конечной концентрации 0,2 mM непосредственно перед загрузкой клеток в планшет для анализа цАМФ. Раствор антитела против CGRP α человека инкубировали в течение одного часа, после чего 20 мкл раствора, содержащего клетки, переносили в планшет для анализа цАМФ. Все образцы тестировали в двух повторностях с соответствующими контролями. Десять микролитров клеток добавляли в лунки и инкубировали планшет в течение 30 минут 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 микролитров стоп-раствора и инкубировали планшет в течение одного часа 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 IC₅₀.

[0100] Для проверки способности рекомбинантных антител противодействовать человеческому CGRP β выполнили аналогичный анализ с замещением агониста CGRP

(конечная концентрация CGRP β 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).

[00664] Результаты: Фигуры 19-37 демонстрируют, что антитела Ab1-Ab14 против CGRP ингибировали повышенные уровни цАМФ в клетке, опосредованные CGRP α , CGRP β и CGRP крысы.

Пример 2 Ферментативное получение Fab-фрагментов

[00665] 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 цепи.

[00666] Фрагменты гуманизированной легкой и тяжелой цепи коммерчески синтезировали и субклонировали в экспрессирующем векторе pGAP. Экспрессирующий вектор pGAP 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, содержавших желательный экспрессирующий вектор, интегрированный в их геном.

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

[00667] 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, DR, and Cregg, JM, 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, выбирали 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*

[00668] 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.

[00669] Вначале размножали инокулят с помощью исследовательского банка клеток в среде, состоящей из следующих питательных веществ (% масс/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 часов 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 PTM1 4,35 мл/л и пеногаситель antifoam 204 1,67 мл/л. Раствор микроэлементов PTM1 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.

[00670] 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.

[00671] Культуры для ферментации выращивали в течение приблизительно 12-16 часов до израсходования исходного глицерина, на что указывал пик концентрации растворенного кислорода. Культуры поддерживали без источника углерода в течение приблизительно трех часов после пика растворенного кислорода. После указанного периода голодания в реактор добавляли болюс этанола из расчета конечной концентрации этанола 1% (масс/об). Культуры для ферментации оставляли уравниваться в течение 15-30 минут. Подачу питательной среды начинали через 30 минут после болюсного добавления этанола и устанавливали на постоянной скорости 1 мл/мин на 40 минут, 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 PTM1 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 часов.

Пример 5 *Способы гуманизации антител*

[00672] 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 гуманизированных 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 гуманизированной аминокислотной последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепи.

Пример 6 *Ингибирование связывания CGRP с его клеточным рецептором*

[00673] 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 CGRP α человека, меченным ^{125}I (0,03 нМ) в течение 30 минут при комнатной температуре. Неспецифическое связывание оценивали в присутствии 0,1 мкМ CGRP α человека. Мембраны фильтровали и промывали. Затем выполняли подсчет частиц на фильтрах для определения специфически связанного CGRP α человека, меченного ^{125}I . Результаты: Фигура 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*

[00674] 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)).

[00675] 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 2х6 см. Затем животных возвращали в клетки на ночь. В день анализа, приблизительно через 24 часа 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 выбритуемую прямоугольную область площадью 2х6 см и сканировали в режиме среднего разрешения. Вначале получали исходную доплеровскую сканограмму и заранее определяли расположение размещения О-кольца путем выявления двух областей с одинаково низким потоком. На выбранные области помещали два резиновых О-кольца (диаметром ~ 1 см) и выполняли исходное сканирование. Непосредственно после завершения сканирования в области каждого из двух О-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 минут 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.

[00676] Для тестирования способности рекомбинантно экспрессируемых антител ингибировать связывание CGRP с его клеточным рецептором выполняли анализ связывания радиоактивного лиганда, как описано ранее.

[00677] Результаты: Фигуры 39 и 40 демонстрируют, что антитела Ab3 и Ab6 против CGRP снижали расширение сосудов в указанной модели после введения капсаицина.

Пример 8 Применение антител против CGRP для блокирования CGRP-индуцированной диареи у двух линий мышей (трансгенных мышей нестин/RAMP1 человека и мышей C57BL/6J)

[00678] Первоначальное открытие того, что CGRP антитела можно применять для профилактики или лечения CGRP-индуцированной диареи, основывалось на результатах исследований влияния антител против CGRP на CGRP-индуцированную светобоязнь или отвращение к свету. Такое исследование провели, поскольку 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 рецепторной активностью, модифицирующей белок 1 (RAMP1) при опосредовании связывания и сигнального пути CGRP. In vitro активность CGRP 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.

ПРОТОКОЛ ОТВРАЩЕНИЯ К СВЕТУ

[00679] Для тестирования способности антител против CGRP блокировать CGRP-индуцированную 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) на генетическом фоне B6.

[00680] Контрольные мыши, используемые в протоколе, являлись однопаметными мышами, нетрансгенными или трансгенными по одному гену (не экспрессирующими hRAMP1), содержащими один из трансгенов: нестин-cre или Cx1-GFP-hRAMP1. Исходную колонию поддерживали путем обратного скрещивания мышей CX1-GFP-hRAMP1 с нетрансгенными однопаметными мышами в барьерном помещении. Для изучения поведения колонию поддерживали путем скрещивания мышей CX1-GFP-hRAMP1, трансгенных по одному гену, с мышами нестин-cre 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.

[00681] Материалы и оборудование, использованные в настоящем протоколе, включали освещенную/темную камеру и камеры для тестирования, содержавшие открытое поле из оргстекла (27 x 27 x 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 x 6,8 см), позволявшее мышам свободно перемещаться между двумя зонами. Указанную камеру для тестирования помещали в звукоизолированный отсек (56 x 38 x 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.)

[00682] 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, Выдержка (мс): 500, Амбулаторный триггер: 3, Тип сессии: С, Время сессии (мин): 20, Интервал блока (с): 300, и сжатый файл: DEFAULT.ZIP.

[00683] 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 5500k) (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.

[00684] Используемые инжекторы изготавливали вручную, вставляя зачищенную иглу 30 калибра $\times \frac{1}{2}$ " 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 непокрытыми. Указанные инжекторы подсоединяли к 10-мкл шприцу Hamilton.

[00685] Мышам вводили ICV α -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.

[00686] Мышам вводили типичное антитело против CGRP, описанное здесь (Ab3), которое хранили до введения при 4 °C. В данном протоколе до начала введения антитела, т.е. приблизительно за 24 часов до тестирования, мышей взвешивали и затем вводили системную (внутрибрюшинную (в/б)) инъекцию среды-носителя: контрольного антитела (антитела против дигоксина), или CGRP-связывающего антитела в дозировке 30 мг/кг. Кроме того, мышей 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 мышей 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 час 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.

[00687] 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 этого вводили препарат с использованием инжектора путем прямой инъекции в правый латеральный желудочек через неповрежденную кожу головы на 1 мм кзади от темени и 1 мм справа от

средней линии.

[00688] 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 [Recober 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.

[00689] После инъекции мышам позволяли восстановиться в течение 30 минут 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. На основании этих наблюдений определяли, оказывало ли введение антитела против CGRP эффект (профилактический или паллиативный) на CGRP-индуцированную диарею у трансгенных мышей, которым вводили антитело, а затем ICV вводили CGRP по сравнению с трансгенными мышами, которым вводили только CGRP, и контролем (среда-носитель или контрольное антитело в среде-носителе). Выявлено, что антитела, ингибирующие CGRP-индуцированную диарею, в данном протоколе были потенциально полезны при лечении или профилактике острой или хронической диареи, в частности, диареи, ассоциированной с повышенными уровнями CGRP.

[00690] После 30-минутного восстановления осуществляли тестирование светового протокола. 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 минут. После завершения регистрации каждую мышь удаляли из камеры и вновь помещали в домашнюю клетку для транспортировки обратно в виварий.

[00691] Результаты

[00692] Используя указанный протокол, продемонстрировали, что антитело против CGRP, разработанное Alder Biopharmaceuticals и идентифицированное здесь как Ab3, приводило к тому, что трансгенные мыши проводили статистически значимое количество времени на

свету. (Данные результаты не приведены, поскольку они относятся к другому изобретению, раскрытому в предварительной заявке США № 61/496860 (№ патентного реестра 67858.760000), поданной 14 июня 2011 г., и патентной заявке США № _____ (№ патентного реестра 67858.730303), поданной в ту же дату, что и настоящая заявка и которая включена в настоящий документ посредством ссылки).

[00693] Непосредственное отношение к настоящему изобретению имеет то, что во время указанных экспериментов было обнаружено, что мыши, обработанные таким же антителом Alder против CGRP (Ab3), также не проявляли CGRP-ассоциированной диареи. В то время как введение CGRP вызывало диарею у большинства трансгенных мышей, используемых в исследованиях отвращения к свету, которым не вводили антитело против CGRP, у тех же трансгенных мышей, получавших введение CGRP, а затем системное (внутрибрюшинное) введение Ab3, диареи не наблюдалось.

[00694] Результаты показаны на Фигуре 41. Конкретнее, Фигура 41 содержит результаты экспериментов по проверке действия интrocеребровентрикулярного (ICV) введения CGRP трансгенным мышам нестин/hRamp1. Данные показывают, что ICV введение CGRP крысы вызывало диарею у трансгенных мышей нестин/hRAMP1 и что внутрибрюшинная инъекция Ab3 (30 мг/кг, ~ 24 ч до стимуляции CGRP) ингибировала диарею, вызванную интrocеребровентрикулярной (ICV) инъекцией CGRP у трансгенных мышей нестин/hRAMP1.

[00695] Как видно из фигуры, у всех трансгенных мышей Нестин/hRamp1, не получавших CGRP (мышей, которым в/б вводили среду-носитель и ICV только среду-носитель), диарея не развивалась. В указанных исследованиях трансгенные по RAMP1 мыши C57/BL6J получали CGRP(альфа) крысы.

[00696] В противоположность этому, у большинства из тех же трансгенных мышей, получавших ICV CGRP крысы, а затем - контроль (контрольное антитело в среде-носителе в/б или комбинацию среды-носителя в/б и ICV), развилась диарея (наблюдалась соответственно у 90% или около 80% мышей, получавших CGRP и контрольное антитело или среду-носитель) Наиболее существенным является то, что данные на Фигуре 41 показывают, что у всех трансгенных мышей, получавших антитело Alder Ab3 и CGRP, диарея не развивалась.

[00697] Кроме того, эксперименты проводились на нетрансгенных мышах (мышах C57BL/6J). В отличие от предыдущих исследований с использованием мышей Нестин/hRAMP1, мышам линии C57/BL6J вводили CGRP(α) человека. Указанные эксперименты привели к аналогичным результатам, т. е. антитело против CGRP предотвращало CGRP-ассоциированную диарею у указанных животных. В совокупности

указанные результаты показывают, что антитела, специфически связывающие CGRP (и, вероятно, другие полипептиды, ингибирующие взаимодействие CGRP/рецептор CGRP), можно применять для ингибирования CGRP-ассоциированной диареи у различных особей и лечения различных состояний или последствий терапевтических процедур, связанных с избыточными уровнями CGRP, например, таких, которые определены здесь.

[00698] Фигуры 42-44 содержат результаты подобных экспериментов по проверке эффектов CGRP на нетрансгенных мышах (C57BL/6J). Указанные результаты показывают, что аналогичное антитело против CGRP (Ab3) предотвращало диарею у мышей C57BL/6J, получавших CGRP человека. В отличие от этого, у большинства мышей C57BL/6J, получавших CGRP(α) человека и аналогичные контрольные вещества, развивалась диарея.

[00699] Конкретнее, Фигура 42 содержит результаты экспериментов, показывающих, что интрацеребровентрикулярная (ICV) инъекция CGRP человека (аналогично CGRP крысы) вызывала диарею у мышей C57BL/6J в зависимости от дозы. Данные также показывают, что у приблизительно 80% мышей C57BL/6J, получивших 2,0 мкг CGRP человека путем интрацеребровентрикулярной инъекции, развивалась диарея, в то время как ни у одной из мышей, получавших контроль или пониженное количество CGRP человека (0,4 мкг), диарея не развивалась.

[00700] Фигура 43 содержит результаты дополнительных экспериментов, показывающих, что внутрибрюшинная инъекция Ab3 (30 мг/кг в/б, ~ 24 ч до стимуляции CGRP) ингибировала диарею, вызванную ICV-инъекцией CGRP у мышей C57/BL6J. В отличие от этого, введение контрольного антитела или среды-носителя не оказывало влияния на диарею, вызванную ICV-инъекцией CGRP.

[00701] Фигура 44 содержит результаты дополнительных экспериментов, показывающих, что Ab3 (30 мг/кг в/б инъекция ~ 24 ч до стимуляции CGRP человека) ингибировало диарею, вызванную в/б инъекцией CGRP у мышей C57/BL6J. В отличие от этого, введение контрольного антитела в той же среде-носителе, что и Ab3, не оказывало влияния на диарею, вызванную CGRP.

[00702] Данные результаты, полученные на разных линиях мышей, убедительно демонстрировали, что введение антитела или фрагмента антитела против CGRP может предотвратить или облегчить диарею, особенно при состояниях, ассоциированных с повышенными уровнями CGRP. Данные результаты также показывали, что существует аналогичный профилактический эффект при введении CGRP двумя различными путями (за счет внутрибрюшинной или интрацеребровентрикулярной инъекции) и что он специфичен для разных видов. Соответственно, антитело против CGRP, по-видимому, могло эффективно связывать CGRP и предотвращать его нежелательные последствия в виде

диареи независимо от того, доставлялось ли оно системно или локально путем ICV-инъекции.

[00703] Кроме того, результаты показали, что анализы на грызунах, которым вводили CGRP, можно использовать для оценки возможности применения антитела-кандидата против CGRP или другого полипептидного ингибитора CGRP/рецептора CGRP для ингибирования или лечения желудочно-кишечных расстройств или других состояний, характеризующихся избытком CGRP, включающих нарушения дефекации, электролитного баланса и/или выведения жидкости и, в частности, диареи. Указанные состояния включают, например, воспалительное заболевание кишечника, диарею, вызванную бактериями или вирусами, функциональные расстройства кишечника, выбранные из группы, состоящей из желудочно-пищеводного рефлюкса, диспепсии, синдрома раздраженного кишечника, синдрома функциональной абдоминальной боли, дивертикулеза и дивертикулита, болезни Крона, илеита, коллагенового колита, лимфоцитарного колита, неспецифического язвенного колита и рака и лечения рака, ассоциированного с диареей, например, медуллярной карциномы щитовидной железы или рака ободочной и прямой кишки, и других ранее определенных состояний.

Пример 9 *Действие введения антитела против CGRP на опорожнение толстой кишки*

[00704] Эксперименты проводили на мышах C57BL/6 с целью оценки потенциальной эффективности введения антитела против CGRP для лечения или профилактики диареи и родственных желудочно-кишечных расстройств. По сравнению с экспериментами с использованием мышей C57BL/6J в Примере 8, использовали более высокую дозировку CGRP и более низкую дозировку антитела; тем не менее, Ab3 и Ab6 эффективно снижали встречаемость диареи.

[00705] *Способы*

[00706] Самцов мышей C57BL/6 (Harlan Laboratories) в возрасте 6-8 недель помещали по отдельности в обычные клетки из прозрачного поликарбоната или клетки-микроизоляторы из прозрачного/желтого поликарбоната с сертифицированной облученной контактной подстилкой и акклиматизировали к помещению для исследования, по меньшей мере, в течение 24 часов. Доступ к пище и воде предоставляли без ограничений. Климат-контроль установили на поддержание температуры 18-26 °C (64-79 °F) при относительной влажности от 30% до 70%. Поддерживали цикл свет:темнота 12:12 ч.

[00707] Животных рандомизировали в четыре экспериментальные группы (по десять животных в каждой) на основании массы тела на следующий день после прибытия. Среднюю массу тела для каждой группы изучали для гарантии того, что средние значения и стандартное отклонение удовлетворяли предположению однородности.

[00708] В день 1 экспериментальным группам 1 и 2 вводили антитело отрицательного контроля (того же изотипа, что и антитела против CGRP), а группы 3 и 4 получали антитела Ab3 и Ab6, соответственно (все антитела вводили в/б в дозировке 10 мг/кг, объем дозы 2,63 мл/кг).

[00709] В день 2 экспериментальным группам 2, 3 и 4 в/б вводили CGRP (0,05 мг/кг, объем дозы 3,33 мл/кг), а группе 1 в/б вводили равный объем дозы фосфатно-солевого буфера. Непосредственно после введения дозы животных помещали на кусок впитывающей бумаги в клетке, отдельной от их домашней клетки. Бумагу взвешивали перед ее помещением на дно клетки и записывали ее массу. Мониторинг дефекации каждого животного проводили в течение 30 минут после дозы CGRP. Наблюдали как встречаемость диареи, так и общую массу фекалий (прилипших к бумаге). Положительную встречаемость диареи записывали при жидком стуле. Общую массу фекалий определяли путем извлечения бумаги из клетки при ее захвате за длинную сторону, подъема бумаги под углом приблизительно 45 градусов и легкого встряхивания. Фекалии, скатывающиеся с бумаги, считали нормальными, все, что прилипло к бумаге, считали диареей. Затем кусок бумаги с прилипшими фекалиями помещали на весы и взвешивали.

[00710] *Результаты*

[00711] После введения CGRP оценивали действие двух различных антител против CGRP на желудочно-кишечные расстройства, в данном случае диарею, в течение 30-минутного периода наблюдения по сравнению с двумя контрольными группами. Как показано на Фиг. 45, у 80% животных положительного контроля (получавших CGRP и антитело отрицательного контроля) проявлялась диарея, по сравнению с лишь 60% и 40% животных, получавших Ab6 и Ab3. Ни у одного из животных отрицательного контроля не проявлялась диарея. Кроме того, общая масса фекалий у животных, получавших антитело против CGRP, была значительно меньше, чем у контрольных животных (Фиг. 46). Кроме того, консистенция фекалий у животных, получавших контрольное антитело, была значительно более жидкой (водянистой) по сравнению с животными, получавшими антитела против CGRP, что являлось еще одним свидетельством того, что антитело против CGRP способствовало восстановлению нормальной функции желудочно-кишечного тракта и, конкретно, нормальному опорожнению толстой кишки.

[00712] Указанные результаты дополнительно подтверждают, что антитело против CGRP можно эффективно применять для профилактики или лечения диареи и родственных состояний.

Пример 10 *Действие введения антитела против CGRP на опорожнение толстой кишки*

[00713] Дальнейший эксперимент проводили на мышах C57BL/6 с целью оценки

потенциальной эффективности введения антитела против CGRP для лечения или профилактики диареи и родственных желудочно-кишечных расстройств. Использовали более высокую дозировку антител против CGRP, чем в Примере 9, и действие на заболеваемость диареей и общую массу фекалий было более выраженным.

[00714] *Способы*

[00715] Диарею экспериментально индуцировали у мышей C57BL/6, распределенных по десять мышей в каждой из четырех экспериментальных групп, как в Примере 9, за исключением того, что дозировка каждого антитела была в три раза выше (30 мг/кг, объем дозы 7,89 мл/кг), и объем дозы CGRP был в три раза выше, хотя дозировка CGRP была аналогичной (0,05 мг/кг, объем дозы 10 мл/кг). Группа 1 (отрицательный контроль) получала антитело отрицательного контроля в день 1 и фосфатно-солевой буфер в день 2. Группы 2, 3 и 4 получали контрольное антитело, Ab3 и Ab6, соответственно, в день 1 и CGRP в день 2. Антитела и CGRP вводили в/б.

[00716] *Результаты*

[00717] После введения CGRP оценивали действие двух различных антител против CGRP на желудочно-кишечные расстройства, в данном случае диарею, в течение 30-минутного периода наблюдения по сравнению с двумя контрольными группами. Как показано на Фиг. 47, у 80% животных положительного контроля (получавших CGRP и антитело отрицательного контроля) проявлялась диарея, по сравнению с лишь 40% и 20% животных, получавших Ab6 и Ab3. Ни у одного из животных отрицательного контроля не проявлялась диарея. Кроме того, средняя общая масса фекалий у животных, получавших антитела против CGRP, была значительно меньше, чем у контрольных животных (Фиг. 48). Кроме того, консистенция фекалий у животных, получавших контрольное антитело, была значительно более жидкой (водянистой) по сравнению с животными, получавшими антитела против CGRP, что являлось еще одним свидетельством того, что антитело против CGRP способствовало восстановлению нормальной функции желудочно-кишечного тракта и, конкретно, нормальному опорожнению толстой кишки.

[00718] Указанные результаты дополнительно подтверждают, что антитело против CGRP можно эффективно применять для профилактики или лечения диареи и родственных состояний.

ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ ингибирования, профилактики или лечения диареи с видимой кровью в стуле или без нее у нуждающегося в этом субъекта и/или поддержания соответствующих уровней электролитов и жидкости в толстой кишке субъекта, подвергающегося состоянию, связанному с диареей с видимой кровью в стуле или без нее, включающий введение эффективного количества антитела против CGRP или фрагмента антитела против CGRP, включающего

(i) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:5, CDR2 последовательности SEQ ID NO:6, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:7, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:8, CDR2 последовательности SEQ ID NO:9, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:10;

(ii) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:15, CDR2 последовательности SEQ ID NO:16, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:17, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:18, CDR2 последовательности SEQ ID NO:19, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:20;

(iii) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:35, CDR2 последовательности SEQ ID NO:36, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:37, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:38, CDR2 последовательности SEQ ID NO:39, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:40;

(iv) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:45, CDR2 последовательности SEQ ID NO:46, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:47, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:48, CDR2 последовательности SEQ ID NO:49, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:50;

(v) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:65, CDR2 последовательности SEQ ID NO:66, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:67, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:68, CDR2 последовательности SEQ ID NO:69, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:70;

(vi) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:75, CDR2 последовательности SEQ ID NO:76, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:77, и варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:78, CDR2 последовательности SEQ ID NO:79, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:80;

(vii) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:85, CDR2 последовательности SEQ ID NO:86, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:87, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:88, CDR2 последовательности SEQ ID NO:89, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:90;

(viii) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:95, CDR2 последовательности SEQ ID NO:96, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:97, и переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:98, CDR2 последовательности SEQ ID NO:99, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:100;

(ix) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:105, CDR2 последовательности SEQ ID NO:106, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:107, и переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:108, CDR2 последовательности SEQ ID NO:109, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:110;

(х) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:115, CDR2 последовательности SEQ ID NO:116, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:117, и переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:118, CDR2 последовательности SEQ ID NO:119, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:120;

(xi) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:125, CDR2 последовательности SEQ ID NO:126, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:127, и варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:128, CDR2 последовательности SEQ ID NO:129, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:130; или

(xii) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:135, CDR2 последовательности SEQ ID NO:136, и CDR3 последовательности

SEQ ID NO:137, и переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO:138, CDR2 последовательности SEQ ID NO:139, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:140.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанная диарея с видимой кровью в стуле или без нее связана с повышенным CGRP.

3. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанная диарея является острой диареей или хронической диареей.

4. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанная диарея включает осмотическую диарею, секреторную диарею, диарею, связанную с моторикой, экссудативную диарею и/или воспалительную диарею.

5. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что диарея вызвана хроническим или острым состоянием, выбранным из функционального расстройства кишечника, синдрома раздраженного кишечника, целиакии, заболевания поджелудочной железы, панкреатита, диабета типа 1 или типа 2, муковисцидоза, болезни Крона, диабетической невропатии, менструации, гипертиреоза, гормонального дисбаланса, энтерита, воспалительного заболевания кишечника, микроскопического колита, ишемической болезни кишечника, язвенного колита, мукозита или туберкулеза.

6. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное состояние, ассоциированное с диареей, является диареей, вызванной бактериями, паразитами или вирусами.

7. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное состояние, приводящее к диарее, вызвано паразитом, выбранным из *Entamoeba histolytica*, *Giardia* или другого простейшего.

8. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное состояние, приводящее к диарее, вызвано бактерией, выбранной из *E coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter* или *Clostridium difficile*.

9. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное состояние, приводящее к диарее, вызвано вирусом, выбранным из ротавируса, РСВ, ВИЧ, норовируса, аденовируса и астровируса.

10. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное состояние, приводящее к диарее, является пищевым отравлением.

11. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное состояние, ассоциированное с диареей, является функциональным расстройством кишечника, выбранным из группы, состоящей из желудочно-пищеводного рефлюкса, диспепсии,

синдрома раздраженного кишечника, синдрома функциональной абдоминальной боли, нарушения всасывания желчных кислот и дивертикулита.

12. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что состояние, ассоциированное с диареей, является воспалительным заболеванием кишечника, выбранным из группы, состоящей из болезни Крона, илеита, коллагенозного колита, лимфоцитарного колита и язвенного колита.

13. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное состояние, ассоциированное с диареей, является раком.

14. Способ по п. 13, отличающийся тем, что указанный рак является медуллярной карциномой щитовидной железы, состоянием при гормонсекретирующей опухоли, раком почки, раком печени или раком ободочной и прямой кишки.

15. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное состояние, ассоциированное с диареей, вызвано лечением рака, которое вызвало диарею, выбранным из химиотерапии, цитокиновой терапии, лучевой терапии, или их комбинации.

16. Способ по п. 15, отличающийся тем, что указанное лечение приводит к мукозиту или повреждению щеточной каемки кишечника.

17. Способ по п. 15, отличающийся тем, что химиотерапия включает соединение платины.

18. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное состояние, ассоциированное с диареей, является медикаментозной терапией, химиотерапией, курсом иммунотерапии, клеточной терапией и/или лучевой терапией.

19. Способ по п. 18, отличающийся тем, что указанный медикамент, ассоциированный с диареей, является антибиотиком, обезболивающим, например, НПВП или опиоидом, антидепрессантом или гормоном.

20. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела вводят в качестве монотерапии.

21. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела вводят с другим агентом для лечения диареи.

22. Способ по п. 21, отличающийся тем, что указанный другой агент является антиперистальтическим агентом, соединением висмута, кодеином, соединением цинка, агентом, связывающим желчные кислоты, раствором электролита или пробиотиком.

23. Способ по п. 22, отличающийся тем, что указанный антиперистальтический агентом является лоперамидом, а агент, связывающий желчные кислоты, является холестирамином, колестиполом или колесевеламом.

24. Способ по любому из пп. 1-22, отличающийся тем, что указанный фрагмент антитела выбран из Fab-фрагмента, Fab'-фрагмента или F(ab')₂-фрагмента.

25. Способ по любому из пп. 1-24, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела негликозилировано или не содержит N-гликозилированных остатков или, если гликозилировано, содержит только остатки маннозы.

26. Способ по любому из пп. 1-25, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела содержит Fc-область, модифицированную для изменения эффекторной функции, периода полужизни, протеолиза и/или гликозилирования.

27. Способ по любому из пп. 1-26, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела является гуманизированным, одноцепочечным или химерным антителом.

28. Способ по любому из пп. 1-27, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела специфически связывается с CGRP-экспрессирующими клетками человека и/или циркулирующими растворимыми молекулами CGRP *in vivo*.

29. Способ по любому из пп. 1-28, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела включает полипептид вариабельной области тяжелой цепи (V_H) последовательности: SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103, 113, 123 или 133, или ее варианта, идентичного им, по меньшей мере, на 90%; и дополнительно включает последовательность, включающую полипептид вариабельной области легкой цепи (V_L) последовательности: SEQ ID NO: 1, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121 или 131, или их варианта, идентичного им, по меньшей мере, на 90%, причем один или более из каркасных (FR) или CDR-остатков в указанном V_H- или V_L-полипептиде замещен остатком другой аминокислоты.

30. Способ по п. 29, отличающийся тем, что один или более из указанных FR-остатков замещен путем консервативной аминокислотной замены.

31. Способ по любому из пп. 1-28, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела включает полипептид тяжелой цепи (V_H) последовательности: SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103, 113, 123 или 133, или ее варианта, идентичного им, по меньшей мере, на 95%; и дополнительно полипептид легкой цепи (V_L) последовательности: SEQ ID NO: 1, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121 или 131, или их варианта, идентичного им, по меньшей мере, на 95%, причем один или более из каркасных (FR) или CDR-остатков в указанном V_H- или V_L-полипептиде замещен остатком другой аминокислоты.

32. Способ по любому из пп. 1-28, отличающийся тем, отличающийся тем, что

указанное антитело против CGRP или его фрагмент включают F_c человека.

33. Способ по п. 32, отличающийся тем, что указанный F_c человека происходит от IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

34. Способ по любому из пп. 1-33, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела ингибирует связывание CGRP с CGRP-R и/или его мультимерами, и/или оказывает антагонистическое действие на их биологические эффекты.

35. Способ по любому из пп. 1-34, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела против CGRP связывается с CGRP со скоростью диссоциации (K_{off}), меньшей или равной 10^{-4} с^{-1} , $5 \times 10^{-5} \text{ с}^{-1}$, 10^{-5} с^{-1} , $5 \times 10^{-6} \text{ с}^{-1}$, 10^{-6} с^{-1} , $5 \times 10^{-7} \text{ с}^{-1}$ или 10^{-7} с^{-1} .

36. Способ по любому из пп. 1-35, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела ингибирует образование комплекса CGRP с CGRP-R и/или его мультимерами.

37. Способ по любому из пп. 1-36, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела вводят внутримышечно, подкожно, внутривенно, ректально, путем инфузии, перорально, трансдермально или путем ингаляции.

38. Способ по любому из пп. 1-36, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела вводят внутривенно.

39. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что CGRP-ассоциированную диарею выбирают из диареи, ассоциированной с синдромом раздраженного кишечника, воспалительным заболеванием кишечника, болезнью Крона, илеитом, язвенным колитом, холерой, заболеванием поджелудочной железы, непереносимостью лактозы, нарушением всасывания фруктозы, мальабсорбцией, передозировкой или избыточным приемом магния, передозировкой или избыточным приемом витамина С, передозировкой или избыточным приемом сорбита, пищевым отравлением, инфекцией *E. coli*, недостаточностью ферментов, аномалией слизистой, целиакией, непереносимостью глютенa, пернициозной анемией, пищевой аллергией, пищевой непереносимостью, синдромом короткой кишки, лучевым фиброзом, диареей, связанной с химиотерапией, лечением орлистатом, муковисцидозом, панкреатитом, хроническим употреблением этанола, ишемической болезнью кишечника, микроскопическим колитом, нарушением всасывания желчных солей (первичная диарея желчных кислот), повышенной секрецией или уровнями серотонина, или диареей младенцев.

40. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное лечение дополнительно включает введение другого терапевтического агента или схемы лечения, выбранных из группы, состоящей из: антибиотиков, противовирусных средств, абсорбентов, антиперистальтических медикаментов, соединений висмута, субсалицилата висмута,

агентов, связывающих желчные кислоты, пробиотиков, пищеварительных ферментов, лактазы, цинка, терапевтических средств для пероральной регидратации и любой их комбинации.

41. Способ по п. 40, отличающийся тем, что указанные антиперистальтические агенты выбраны из группы, состоящей из лоперамида (Имодиум), дифеноксилата с атропином (Lomotil), опиатов, болеутоляющей настойки опия, кодеина и морфина.

42. Способ по п. 40, отличающийся тем, что указанные агенты, связывающие желчные кислоты, выбирают из группы, состоящей из: холестирамина, колестипола и колесевелама.

43. Способ по п. 42, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела является scFv, камелизированным антителом, нанотелом, IgNAR (одноцепочечные антитела, происходящие из организма акул).

44. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела включает полипептид вариабельной области легкой цепи (VL) последовательности SEQ ID NO: 1, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121 или 131, и полипептид вариабельной области тяжелой цепи (VH) последовательности SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103, 113, 123 или 133.

45. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела включает полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 2, 12, 32, 42, 62, 72, 82, 92, 102, 112, 122, или 132, и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 4, 14, 34, 44, 64, 74, 84, 94, 104, 114, 124, или 134.

46. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что указанное антитело или фрагмент антитела против CGRP имеет Fc-область, содержащую мутацию, изменяющую или элиминирующую гликозилирование, или элиминирующую N-гликозилирование.

Ab1Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab1 (химера).

QSLEESGGRLVTPGTPLTLCTVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRASSTTVDLKMTS
 LTTEDTATYFCARGDIWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
 LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 4)

Белковая последовательность вариательной области тяжелой цепи Ab1 (химера).

QSLEESGGRLVTPGTPLTLCTVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRASSTTVDLKMTS
 LTTEDTATYFCARGDIWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 3)

Белковая последовательность вариательной области тяжелой цепи Ab1 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QSLEESGGRLVTPGTPLTLCTVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRASSTTVDLKMTS
 LTTEDTATYFCARGDIWGPGTLVTVSS (SEQ ID NOS: 8, 9, 10, соответственно)

Последовательность ДНК вариательной области тяжелой цепи Ab1 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGACTCG
 ACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTA
 ATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGCCTCGTCGACCACGGTGGATCTGA
 AAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACCCCTCGT
 CACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 143)

Фиг. 1

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab1 (химера).

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGGTCGCCTGGTCAACGCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGACTCG
ACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTA
ATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGCCTCGTTCGACCACGGTGGATCTGA
AAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGGCCAGGCACCCCTCG
TCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCAC
AGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAG
CGGCGTGACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC
AGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC
AAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCC
CCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAG
ACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG
TACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTTGCAACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG
GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC
CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT
CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC
CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 144)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab1 (химера).

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTQFTLTISDLECAD
AATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 2)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab1 (химера).

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTQFTLTISDLECAD
AATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 1)

Фиг. 1 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Белковая последовательность вариабельной области легкой цепи Ab1 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGSSGTQFTLTISDLECA
DAATYYCLGSYDCSSGDCFFGGGTEVVVKR (SEQ ID NOS: 5, 6, 7, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab1 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATGATAACAACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTAC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGAC
CTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTCGGCGGAG
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT (SEQ ID NO: 141)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab1 (химера).

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATGATAACAACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACAT
CCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACCT
GGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTCGGCGGAG
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATC
TGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCC
CTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTG
ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC
ACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 142)

Фиг. 1 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab2

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab2, продуцированная в клетке млекопитающего (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGIVIGINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 14)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab2 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGIVIGINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO: 13)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab2 (гуманизированная). CDR1: полужирный;
CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGIVIGINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGT LVT VSS (SEQ ID NOS: 18, 19, 20, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области тяжелой цепи Ab2 (гуманизированная). CDR1: полужирный;
CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAC
TCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTA
TCAATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGAC
CCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 153)

Фиг. 2

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab2, продуцированная в клетке млекопитающего (гуманизированная).

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAC
TCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTA
TCAATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
CCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCT
GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
TCCAGCAGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
GAGCCCAAATCTTGTGACAAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
TCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGG
AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
AGTGCAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
CACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
TCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATAAGACCACGCCTCCCGTGC
TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
NO: 154)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab2 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
VATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSSTLSLTKADYEKKHVVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12)

Белковая последовательность вариабельной области легкой цепи Ab2 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
VATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 11)

Фиг. 2 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Белковая последовательность вариабельной области легкой цепи Ab2 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QVLTQSPSSLSASVGDRVITINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSDCSSGDCFVFGGGGTKVEIKR (SEQ ID NOS: 15, 16, 17, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab2 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTAC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTCGGCGGAG
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 151)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab2 (гуманизированная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
GTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTCGGCGGAGG
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 152)

Фиг. 2 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab3

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab3, продуцированная в дрожжевой клетке (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGIVIGINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 24)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab3 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGIVIGINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO: 23)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab3 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGIVIGINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGT LVT VSS (SEQ ID NOS: 28, 29, 30, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области тяжелой цепи Ab3 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAC
TCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCA TTGGTA
TCAATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGAC
CCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 163)

Фиг. 3

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab3, продуцированная в дрожжевой клетке (гуманизированная).

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAC
TCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCATTGGTA
TCAATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
CCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCT
GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
TCCAGCAGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGAGAGTT
GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACCTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
TCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGG
AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTACGCGTCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
AGTGCAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
NO: 164)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab3 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPKGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
VATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC'LLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 22)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab3 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPKGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
VATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 21)

Фиг. 3 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Белковая последовательность вариабельной области легкой цепи Ab3 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NOS: 25, 26, 27, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab3 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATGATAACAACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTAC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAG
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 161)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab3 (гуманизированная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
GTGTTTATGATAACAACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGG
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 162)

Фиг. 3 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab4

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab4 (химера).

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCSVSGIDLSGYMNVWRQAPGKGLEWIGVIGINGATYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTS
 LTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
 LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP
 EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
 KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 34)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab4 (химера).

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCSVSGIDLSGYMNVWRQAPGKGLEWIGVIGINGATYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTS
 LTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 33)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab4 (химера). CDR1: полужирный; CDR2:
подчеркнутый; CDR3: курсив.

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCSVSGIDLSGYMNVWRQAPGKGLEWIGVIGINGATYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTS
 LTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVTVSS (SEQ ID NOS: 38, 39, 40, соответственно)

Последовательность ДНК варибельной области тяжелой цепи Ab4 (химера). CDR1: полужирный; CDR2:
подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGTTCCGTCTCTGGCATCG
 ACCTCAGTGGCTACTACATGAAGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATT
 AATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTG
 AAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCCGGGCACCCTC
 GTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 173)

Фиг. 4

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab4 (химера).

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCAACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGTTCCGTCTCTGGCATCG
ACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTA
ATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGA
AAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGGCCCGGGCACCCCTCG
TCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCAC
AGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAG
CGGCGTGACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC
AGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC
AAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCC
CCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAG
ACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG
TACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTTGACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG
GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC
CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTCTGGACT
CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC
CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 174)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab4 (химера).

QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGQPPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCND
AAAYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 32)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab4 (химера).

QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGQPPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCND
AAAYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 31)

Фиг. 4 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Белковая последовательность вариабельной области легкой цепи Ab4 (химера), CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQSVYHNTYLAWYQOKPGQPPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCN
DAAAYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NOS: 35, 36, 37, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab4 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAACAACCTGATCTATGATGC
ATCCACTCTGGCGTCTGGGGTCCCATCGCGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGGC
GTGCAGTGTAACGATGCTGCCGCTTACTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTACTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAG
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT (SEQ ID NO: 171)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab4 (химера).

CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
GTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAACAACCTGATCTATGATGCATC
CACTCTGGCGTCTGGGGTCCCATCGCGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGGCGTG
CAGTGTAACGATGCTGCCGCTTACTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTACTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGG
GACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 172)

Фиг. 4 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab5

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab5, продуцированная в клетке млекопитающего (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDL SGYYMNWVRQAPGKGLEWVGVIGINGATYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 44)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab5 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDL SGYYMNWVRQAPGKGLEWVGVIGINGATYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO: 43)

**Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab5 (гуманизированная). CDR1: полужирный;
CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDL SGYYMNWVRQAPGKGLEWVGVIGINGATYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGT LVT VSS (SEQ ID NOS: 48, 49, 50, соответственно)

**Последовательность ДНК вариабельной области тяжелой цепи Ab5 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2:
подчеркнутый; CDR3: курсив.**

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
TCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGT
ATTAATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTG
TATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
CCCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 183)

Фиг. 5

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab5, продуцированная в клетке млекопитающего (гуманизированная).

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
TCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTGGAGTCAATTGGTA
TTAATGGTGGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
CCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGG
GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCT
GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
TCCAGCAGCTTGGGCAACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
TCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCA
CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG
AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTGCTGACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
AGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
CACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGC
TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
NO: 184)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab5 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYIINTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 42)

Белковая последовательность вариабельной области легкой цепи Ab5 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYIINTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 41)

Фиг. 5 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Белковая последовательность вариабельной области легкой цепи Ab5 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NOS: 45, 46, 47, соответственно)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab5 (гуманизированная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTAATAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAG
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 181)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab5 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
GTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGCATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTAATAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGG
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 182)

Фиг. 5 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab6

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDLSGYYMNWVRQAPGKGLEWVG VIGINGATYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 54)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab6 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDLSGYYMNWVRQAPGKGLEWVG VIGINGATYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 53)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab6 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDLSGYYMNWVRQAPGKGLEWVG VIGINGATYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCARGD /WGQGT LVTVSS (SEQ ID NOS: 58, 59, 60, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области тяжелой цепи Ab6 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
TCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGT
ATTAATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCAAGGTG
TATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
CCCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 193)

Фиг. 6

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

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
TCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCGTCAAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTA
TTAATGGTGGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
CCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAATCAGGCGCCCT
GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGAGAGTT
GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
TCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG
AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCCTACCGTCCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
AGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
CACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
NO: 194)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab6 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSSTLSLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 52)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab6 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 51)

Фиг. 6 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Белковая последовательность вариабельной области легкой цепи Ab6 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NOS: 55, 56, 57, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab6 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTACTAATGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAG
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 191)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab6 (гуманизированная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
GTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGCATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTACTAATGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGG
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 192)

Фиг. 6 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab7

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab7 (химера).

QEQLKESGGRLVTPGTSLTLCTVSGIDLSNIIYMQWVRQAPGKGLEWIGVVGINGRTYYASWAKGRFTISRTSSTTVDLKM
TRLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 64)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab7 (химера).

QEQLKESGGRLVTPGTSLTLCTVSGIDLSNHYMQWVRQAPGKGLEWIGVVGINGRTYYASWAKGRFTISRTSSTTVDLKM
TRLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 63)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab7 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QEQLKESGGRLVTPGTSLTLCTVSGIDLSNHYMQWVRQAPGKGLEWIGVVGINGRTYYASWAKGRFTISRTSSTTVDLKM
TRLTTEDTATYFCARGD/WGPGLTVTVSS (SEQ ID NOS: 68, 69, 70, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области тяжелой цепи Ab7 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACATCCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGA
ATCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGAGTCGTTGG
TATTAATGGTTCGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAACCTCGTCGACCACGGTGGAT
CTGAAAATGACCAGGCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCAGGCACC
CTGGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 203)

Фиг. 7

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи
Ab7 (химера).

CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCAACGCTGGGACATCCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGA
ATCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGAGTCGTTGGT
ATTAATGGTCGCACATACTACGCGAGCTGGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAACCTCGTCGACCACGGTGGAT
CTGAAAATGACCAGGCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGGCCAGGCACC
CTGGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGG
GCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGA
CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC
CAGCAGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGA
GCCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACCTCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTC
TCCCCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG
AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG
CAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTGTCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAG
TGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA
CAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC
TATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG
GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT
GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
NO: 204)

Полноразмерная белковая последовательность легкой
цепи Ab7 (химера).

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKSGSGTQFTLTISDVQCD
DAATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 62)

Белковая последовательность варибельной области легкой
цепи Ab7 (химера).

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKSGSGTQFTLTISDVQCD
DAATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 61)

Фиг. 7 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab7 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSLASGVSSRFKGS GSGTQFTLTISDVQCD
DAATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NOS: 65, 66, 67, соответственно)

Последовательность ДНК варибельной области легкой цепи Ab7 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATAATTACAACCTACCTTGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACA
TCCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACG
TGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATGACTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGG
GACCGAGGTGGTGGTCAAACGT (SEQ ID NO: 201)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи
Ab7 (химера).

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATAATTACAACCTACCTTGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACAT
CCTCTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGT
GCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATGACTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAG
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATC
TGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCC
CTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTG
ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC
ACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 202)

Фиг. 7 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNHMQWVRQAPGKGLEWVGVVINGRITYYASWAKGRFTISRDNSTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
 HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
 MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
 PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 74)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab8 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNHMQWVRQAPGKGLEWVGVVINGRITYYASWAKGRFTISRDNSTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGTTLVTVSS (SEQ ID NO: 73)

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNHMQWVRQAPGKGLEWVGVVINGRITYYASWAKGRFTISRDNSTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGTTLVTVSS (SEQ ID NOS: 78, 79, 80, соответственно)

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

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
 TCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCGTTGGTA
 TCAATGGTCGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
 ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGAC
 CCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 213)

Фиг. 8

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab8 (гуманизированная).

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
TCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCGTTGGTA
TCAATGGTTCGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCC'AAGGGA
CCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCT
GACCAGCGGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
TCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG
AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCGTCCCTACCGTCCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
AGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
NO: 214)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab8 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSSTLSLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 72)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab8 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 71)

Фиг. 8 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

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

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSDCSTGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NOS: 75, 76, 77, соответственно)

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

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTACAATTACAACCTTGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTAC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCCGGAG
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 211)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab8
(гуманизированная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
GTGTTTACAATTACAACCTTGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCCGGAGG
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 212)

Фиг. 8 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab9

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab9 (химера).

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIGLSSYYMQWVRQSPGRGLEWIGVIGSDGKTTYATWAKGRFTISKTSSTTVDLRMAS
LTTEDTATYFCTRGDIWGPGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP
EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 84)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab9 (химера).

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIGLSSYYMQWVRQSPGRGLEWIGVIGSDGKTTYATWAKGRFTISKTSSTTVDLRMAS
LTTEDTATYFCTRGDIWGPGLVTVSS (SEQ ID NO: 83)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab9 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIGLSSYYMQWVRQSPGRGLEWIGVIGSDGKTTYATWAKGRFTISKTSSTTVDLRMAS
LTTEDTATYFCTRGDIWGPGLVTVSS (SEQ ID NOS: 88, 89, 90, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области тяжелой цепи Ab9 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCG
GCCTCAGTAGCTACTACATGCAGTGGGTCCGCCAGTCTCCAGGGAGGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTAGT
GATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAGACCTCGTCGACCACGGTGGATCTG
AGAATGGCCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCCCGGGGACCCCTC
GTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 223)

Фиг. 9

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab9 (химера).

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCG
GCCTCAGTAGCTACTACATGCAGTGGGTCCGCCAGTCTCCAGGGAGGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTAGTG
ATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAAGACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGA
GAATGGCCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGGCCCGGGGACCCTCG
TCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCAC
AGCGGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAG
CGGCGTGACACACCTTCCCGGTGTCTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC
AGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC
AAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAATCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCC
CCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAG
ACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG
TACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG
GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC
CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT
CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC
CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 224)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab9 (химера).

QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFRGSGSGTQFTLTISDVQCD
DAATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 82)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab9 (химера).

QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFRGSGSGTQFTLTISDVQCD
DAATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 81)

Белковая последовательность вариабельной области легкой цепи Ab9 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGQPPKQLIY**STSTLAS**GVSSRFRGSGSGTQFTLTISDVQCD
DAATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NOS: 85, 86, 87, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab9 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AATGTTTATAATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTAC
GTCCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAGAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGAC
GTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAG
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT (SEQ ID NO: 221)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи
Ab9 (химера).

CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
ATGTTTATAATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACGTC
CACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTAGAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTG
CAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGG
GACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 222)

Фиг. 9 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab10

**Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи
Ab10 (гуманизированная).**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVG VIGSDGKTYyatWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCTR GDIWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHITCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 94)

**Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи
Ab10 (гуманизированная).**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVG VIGSDGKTYyatWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCTR GDIWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO: 93)

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVG VIGSDGKTYyatWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCTR GDIWGQGT LVT VSS (SEQ ID NOS: 98, 99, 100, соответственно)

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

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
TCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCATTGGTA
GTGATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGAC
CCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 233)

Фиг. 10

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab10 (гуманизированная).

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
TCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTA
GTGATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
CCCTCGTCAACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCT
GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
TCCAGCAGCTTGGGACACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
TCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG
AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
AGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
CACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
TGGACTCCGACGGTCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
NO: 234)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab10 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSSTLSLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 92)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab10 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 91)

Фиг. 10 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

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

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIY**STSTLAS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTIS**SLQPED**
VATYYCLG**SYDCSRGDCFV**FGGGTKVEIKR (SEQ ID NOS: 95, 96, 97, соответственно)

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

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AATGTTTACAATAACA**ACTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCTTAAGCAACTGATCTATTCTAC**
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAG
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 231)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab10 (гуманизированная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
ATGTTTACAATAACA**ACTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCTTAAGCAACTGATCTATTCTACATC**
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGG
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 232)

Фиг. 10 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab11

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи
Ab11 (химера).

QSLEESGGRLVTPGGSLTLCTVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGVNGKRYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMT
SLTTEDTATYFCARGDIWPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSYMHREALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 104)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи
Ab11 (химера).

QSLEESGGRLVTPGGSLTLCTVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGVNGKRYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMT
SLTTEDTATYFCARGDIWPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 103)

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

QSLEESGGRLVTPGGSLTLCTVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGVNGKRYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMT
SLTTEDTATYFCARGD/WGPGTLVTVSS (SEQ ID NOS: 108, 109, 110, соответственно)

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

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGAGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCG
ACGTCACTAACTACTATATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCAITGGTGTGA
ATGGTAAGAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGA
AAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGCGACATCTGGGGCCCGGGGACCCTCGT
CACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 243)

Фиг. 11

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи
Ab11 (химера).

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCAAGCCTGGAGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCG
ACGTCACTAACTACTATATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTGTGA
ATGGTAAGAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGA
AAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGCGACATCTGGGGCCCCGGGGACCCTCG
TCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGGCAC
AGCGGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAG
CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC
AGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC
AAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCC
CCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAG
ACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG
TACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTGTCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG
GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC
CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTCTGGACT
CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC
CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 244)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи
Ab11 (химера).

QVLTQTASPVSPAVGSTVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTQFTLTISDVQCDD
AATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 102)

Белковая последовательность варибельной области легкой
цепи Ab11 (химера).

QVLTQTASPVSPAVGSTVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTQFTI.TISDVQCDD
AATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 101)

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

QVL TQTASPVSPAVGSTVTINCRASQSVYYNNYLA WYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTQFTLTISDVQCD
DAATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NOS: 105, 106, 107, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab11 (химера). CDR1: полужирный;
CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAGGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTCCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAG
AGTGTTTATTATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTAC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGAC
GTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTAGTAATGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAG
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT (SEQ ID NO: 241)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab11 (химера).

CAGGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTCCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGA
GTGTTTATTATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTG
CAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTAGTAATGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGG
GACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 242)

Фиг. 11 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab12

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab12 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWVG VIGVNGKRYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 114)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab12 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWVG VIGVNGKRYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 113)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab12 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWVG VIGVNGKRYYASWAKGRFTISRDN SKTTVY
LQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NOS: 118, 119, 120, соответственно)

Последовательность ДНК варибельной области тяжелой цепи Ab12 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
TCGACGTCACTAACTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCAATTGGTG
TGAATGGTAAGAGATACTACGCGAGCTGGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTCTGTGCCAGAGGGGGACATCTGGGGCCAAGGGAC
CCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 253)

Фиг. 12

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи
Ab12 (гуманизированная).

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
TCGACGTCACTAACTACTACATGCAATGGGTCCGTCAAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTG
TGAATGGTAAGAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
CCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCT
GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
TCCAGCAGCTTGGGCAACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACCTCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
TCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG
AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
AGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
NO: 254)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи
Ab12 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVITNCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDV
ATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 112)

Белковая последовательность варибельной области легкой
цепи Ab12 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVITNCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDV
ATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 111)

Фиг. 12 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Белковая последовательность вариабельной области легкой цепи Ab12 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NOS: 115, 116, 117, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab12 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCGGGGCCAGTCAG
AGTGTTTACTATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTAC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTAGTAATGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAG
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 251)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи
Ab12 (гуманизированная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCGGGGCCAGTCAGA
GTGTTTACTATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTAGTAATGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGG
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 252)

Фиг. 12 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab13

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab13 (химера).

QSVEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFDFSSNAMWWVRQAPGKGLEWIGCIYNGDGSTYYASWVNGRFSISKTSSTTVTLQL
NSLTVADTATYYCARDLDLWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 124)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab13 (химера).

QSVEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFDFSSNAMWWVRQAPGKGLEWIGCIYNGDGSTYYASWVNGRFSISKTSSTTVTLQL
NSLTVADTATYYCARDLDLWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 123)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab13 (химера). CDR1: полужирный; CDR2:
подчеркнутый; CDR3: курсив.

QSVEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFDFSSNAMWWVRQAPGKGLEWIG**CIYNGDGSTYYASWVNGRFSISKTSSTTVTLQL**
NSLTVADTATYYCARD**LDL**WGPGTLVTVSS (SEQ ID NOS: 128, 129, 130 соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области тяжелой цепи Ab13 (химера). CDR1: полужирный; CDR2:
подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGAGGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCC
GACTTCAGTAGCAATGCAATGTGGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCATTTACAA
TGGTGATGGCAGCACATACTACGCGAGCTGGGTGAATGGCCGATTCTCCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGACT
CTGCAACTGAATAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACGTATTATTGTGCGAGAGAT**CTTGACTTG**TGGGGCCCCGGGCA
CCCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 263)

Фиг. 13

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи
Ab13 (химера).

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGAGGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATT
GACTTCAGTAGCAATGCAATGTGGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCATTTACAAT
GGTGATGGCAGCACATACTACGCGAGCTGGGTGAATGGCCGATTCTCCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGA
TGCAACTGAATAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACGTATTATTGTGCGAGAGATCTTGACTTGTGGGGCCCGGGCAC
CCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG
GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTG
ACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT
CCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTG
AGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCT
CTTCCCCCCTAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC
GAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA
GCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA
GTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACC
ACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAAGGCTT
CTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGCT
GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
NO: 264)

Полноразмерная белковая последовательность легкой
цепи Ab13 (химера).

AIVMTQTPSSKSPVGDVTINCQASESLYNNALAWFQQKPGQPPKRLIYDASKLASGVPSRFSGGSGTQFTLTISGVQCD
DAATYYCGGYRSDSDGVAFAGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 122)

Белковая последовательность варибельной области легкой
цепи Ab13 (химера).

AIVMTQTPSSKSPVGDVTINCQASESLYNNALAWFQQKPGQPPKRLIYDASKLASGVPSRFSGGSGTQFTLTISGVQCD
DAATYYCGGYRSDSDGVAFAGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 121)

Белковая последовательность вариабельной области легкой цепи Ab13 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

AIVMTQTPSSKSVPGDVTITNCQASESLYNNNALAWFQQKPGQPPKRLIYDASKLASGVPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCD
DAATYYCGGYRSDSVDGVAFAGGTEVVVKR (SEQ ID NOS: 125, 126, 127. соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab13 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

GCCATCGTGATGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGAGACACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGT
GAGAGTCTTTATAATAACAACGCCTTGGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCGCCTGATCTATGA
TGCATCCAACTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAGTGGCGGTGGGTCTGGGACACAGTTCACCTCTACCATCAGT
GGCGTGCAAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTGGAGGCTACAGAAGTGATAGTGTTGATGGTGTTCGCGCGGA
GGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT (SEQ ID NO: 261)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи
Ab13 (химера).

GCCATCGTGATGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGAGACACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTG
AGAGTCTTTATAATAACAACGCCTTGGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCGCCTGATCTATGATGC
ATCCAACTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAGTGGCGGTGGGTCTGGGACACAGTTCACCTCTACCATCAGTGGC
GTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTGGAGGCTACAGAAGTGATAGTGTTGATGGTGTTCGCGCGGAG
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATC
TGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCC
CTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTG
ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC
ACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 262)

Фиг. 13 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab14**Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи****Ab14 (гуманизированная).**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVG VIGSDGKTYyatWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCTR GDIWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
 TTPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
 RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 134)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи**Ab14 (гуманизированная).**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVG VIGSDGKTYyatWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCTR GDIWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 133)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab14 (гуманизированная). CDR1: полужирный;**CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVG VIGSDGKTYyatWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCTR GD/WGQGT LVTVSS (SEQ ID NOS: 138, 139, 140, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области тяжелой цепи Ab14 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2:**подчеркнутый; CDR3: курсив.**

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
 TCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCA TTGGTA
GTGATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
 ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGAC
 CCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 273)

Фиг. 14

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи
Ab14 (гуманизированная).

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
TCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCATTGGTA
GTGATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
CCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCT
GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
TCCAGCAGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGAGAGTT
GAGCCCAAATCTTGTGACAAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
TCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG
AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
AGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATAAGACCACGCCTCCCGTGC
TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
NO: 274)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи
Ab14 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVITNCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSSTLSLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 132)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи
Ab14 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVITNCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 131)

Фиг. 14 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Белковая последовательность вариабельной области легкой цепи Ab14 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCSRGDCFFVGGGKVEIKR (SEQ ID NOS: 135, 136, 137, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab14 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

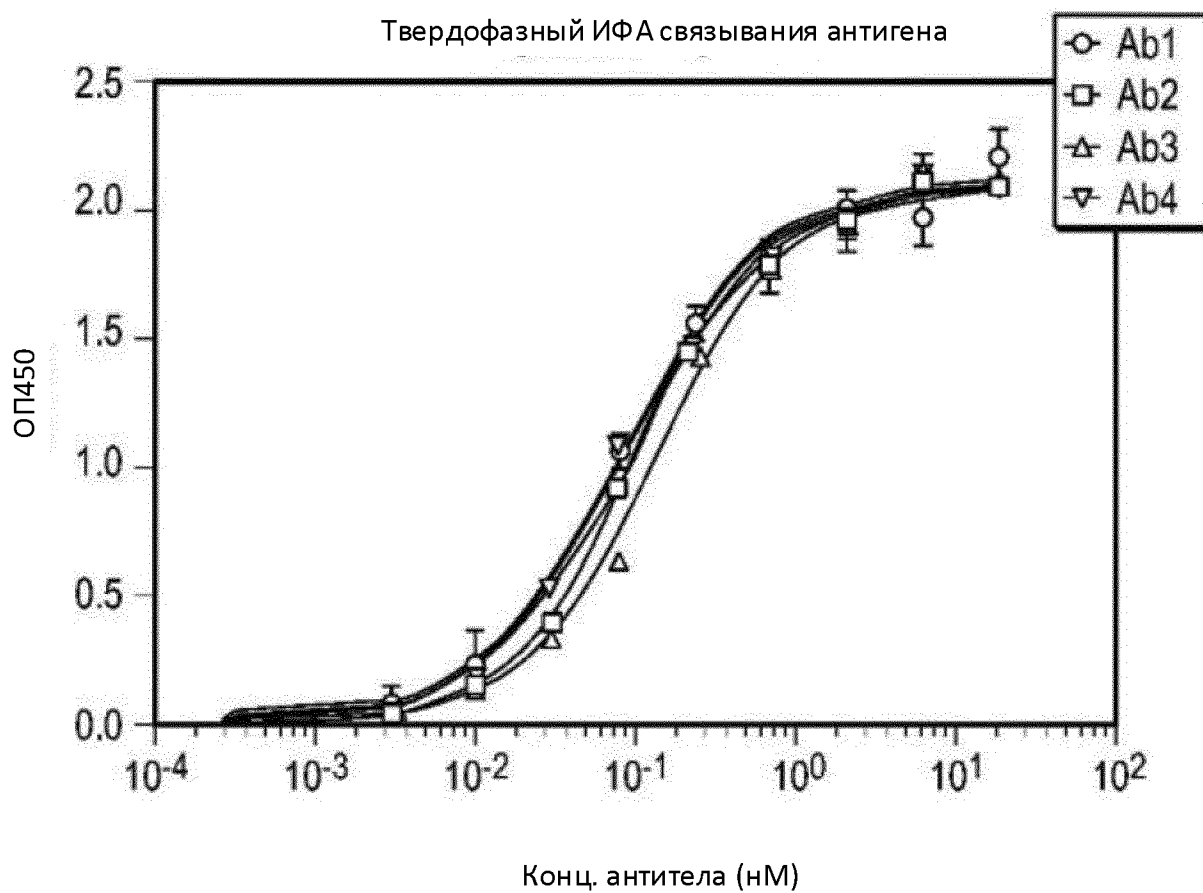
CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AATGTTTACAATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTAC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAG
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 271)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи
Ab14 (гуманизированная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
ATGTTTACAATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGG
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 272)

Фиг. 14 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

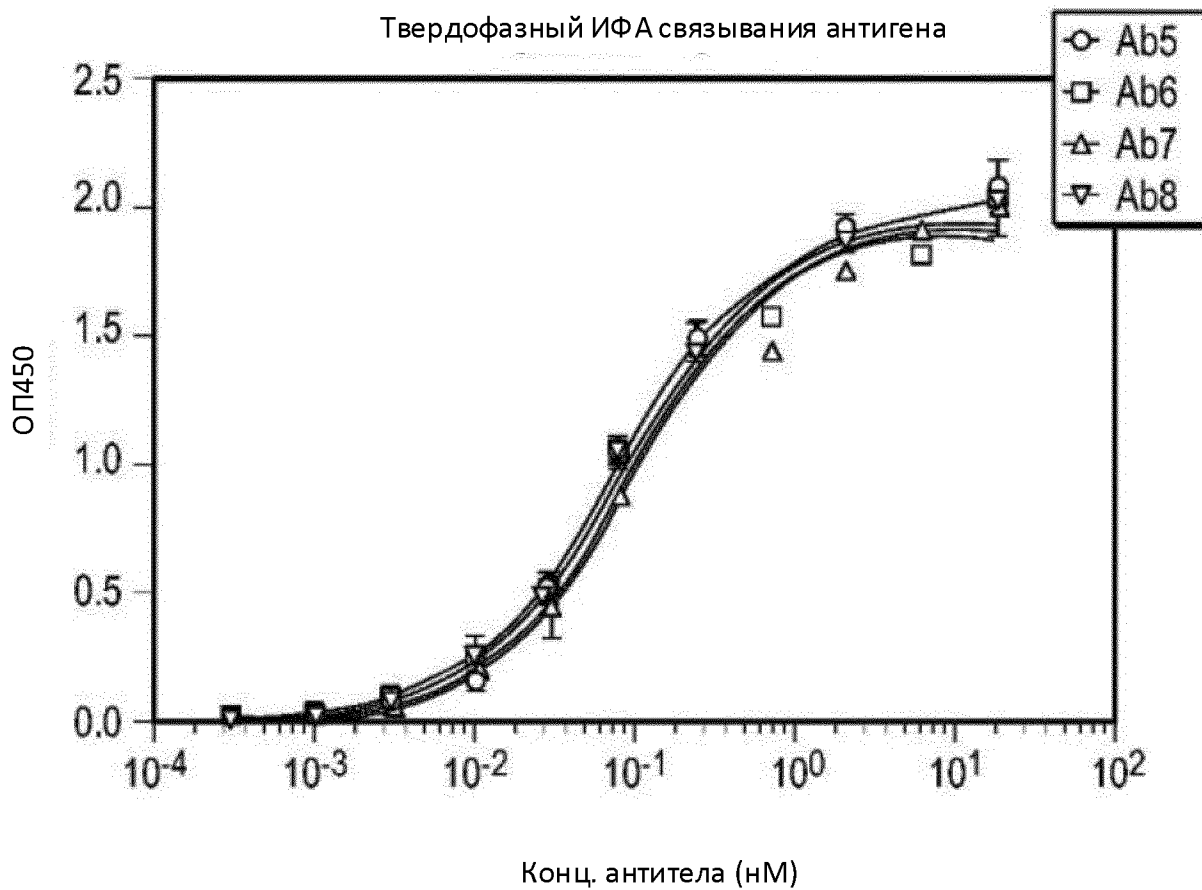
43/76

Твердофазный ИФА CGRP α человека

	EC50 (нМ)
Ab1	103
Ab2	83
Ab3	154
Ab4	88

Фиг. 15

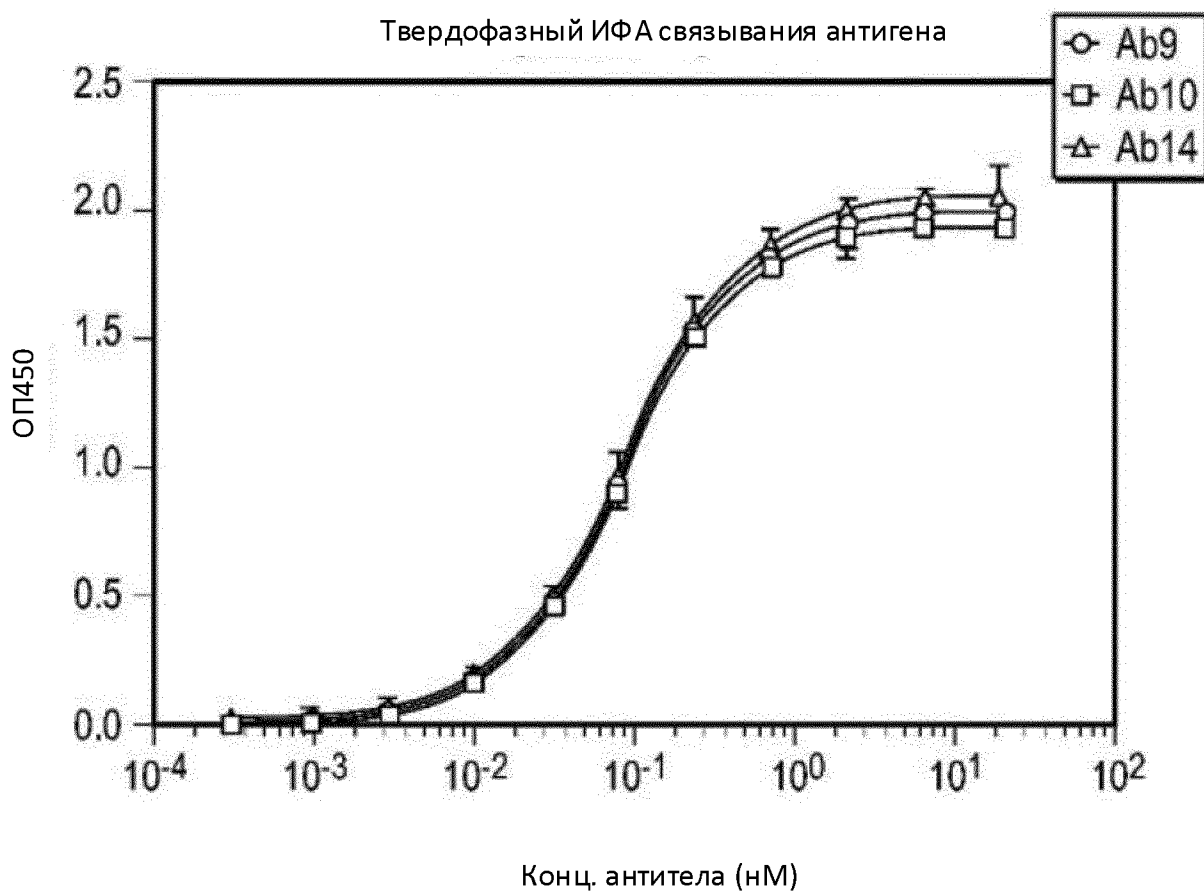
44/76

Твердофазный ИФА CGRP α человека

	EC50 (нМ)
Ab5	103
Ab6	95
Ab7	70
Ab8	74

Фиг. 16

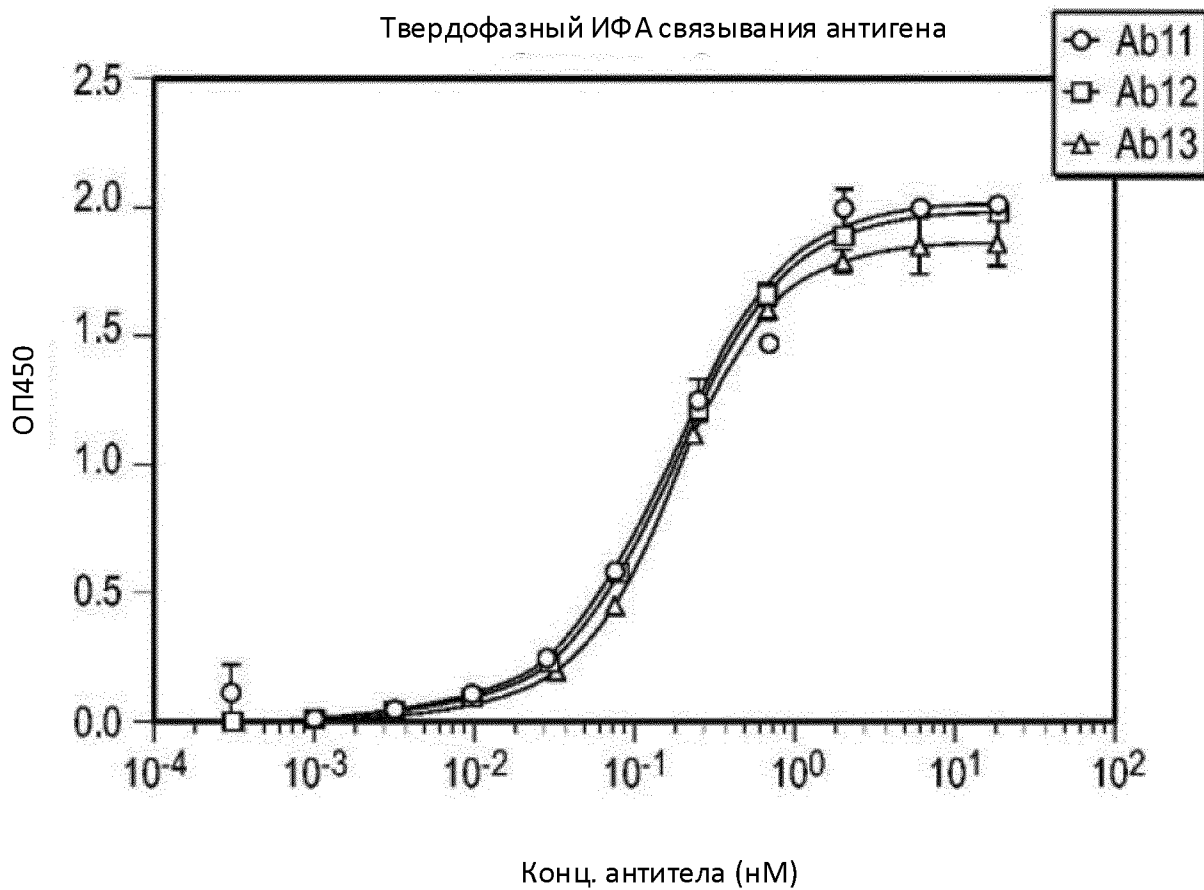
45/76

Твердофазный ИФА CGRP α человека

	EC50 (нМ)
Ab9	79
Ab10	92
Ab14	89

Фиг. 17

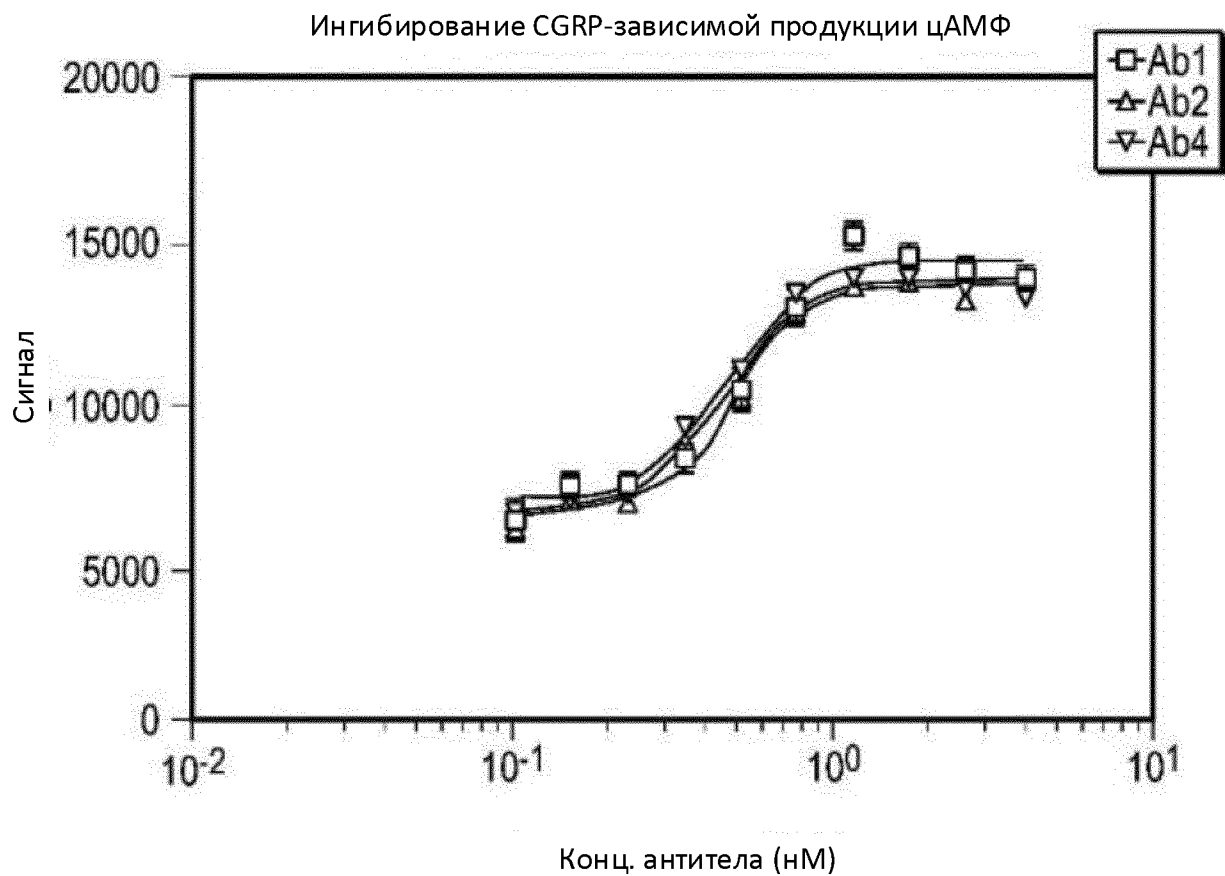
46/76

Твердофазный ИФА CGRP α человека

	EC50 (нМ)
Ab11	184
Ab12	171
Ab13	188

Фиг. 18

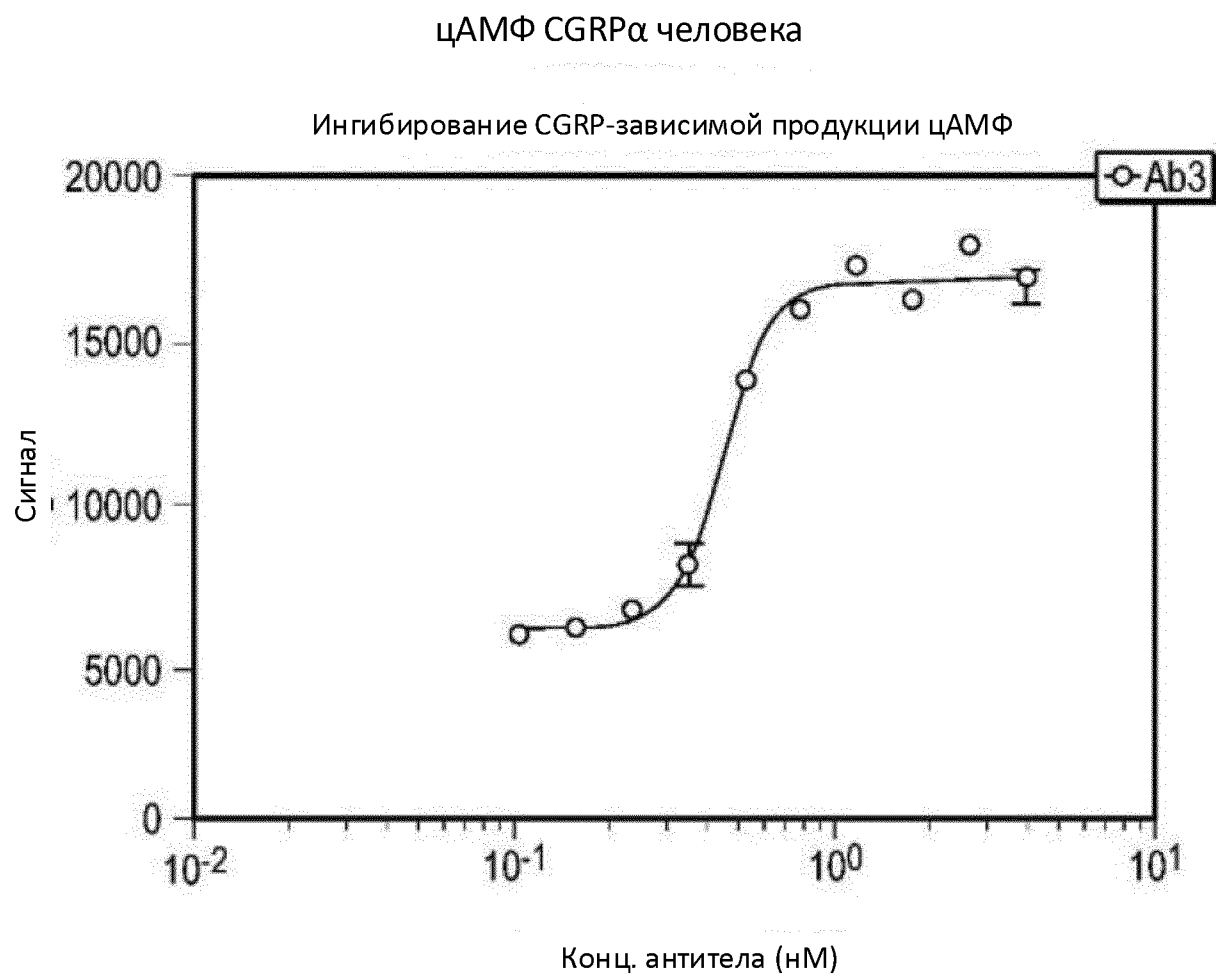
47/76

цАМФ CGRP α человека

	IC50 (нМ)
Ab1	531
Ab2	452
Ab4	429

Фиг. 19

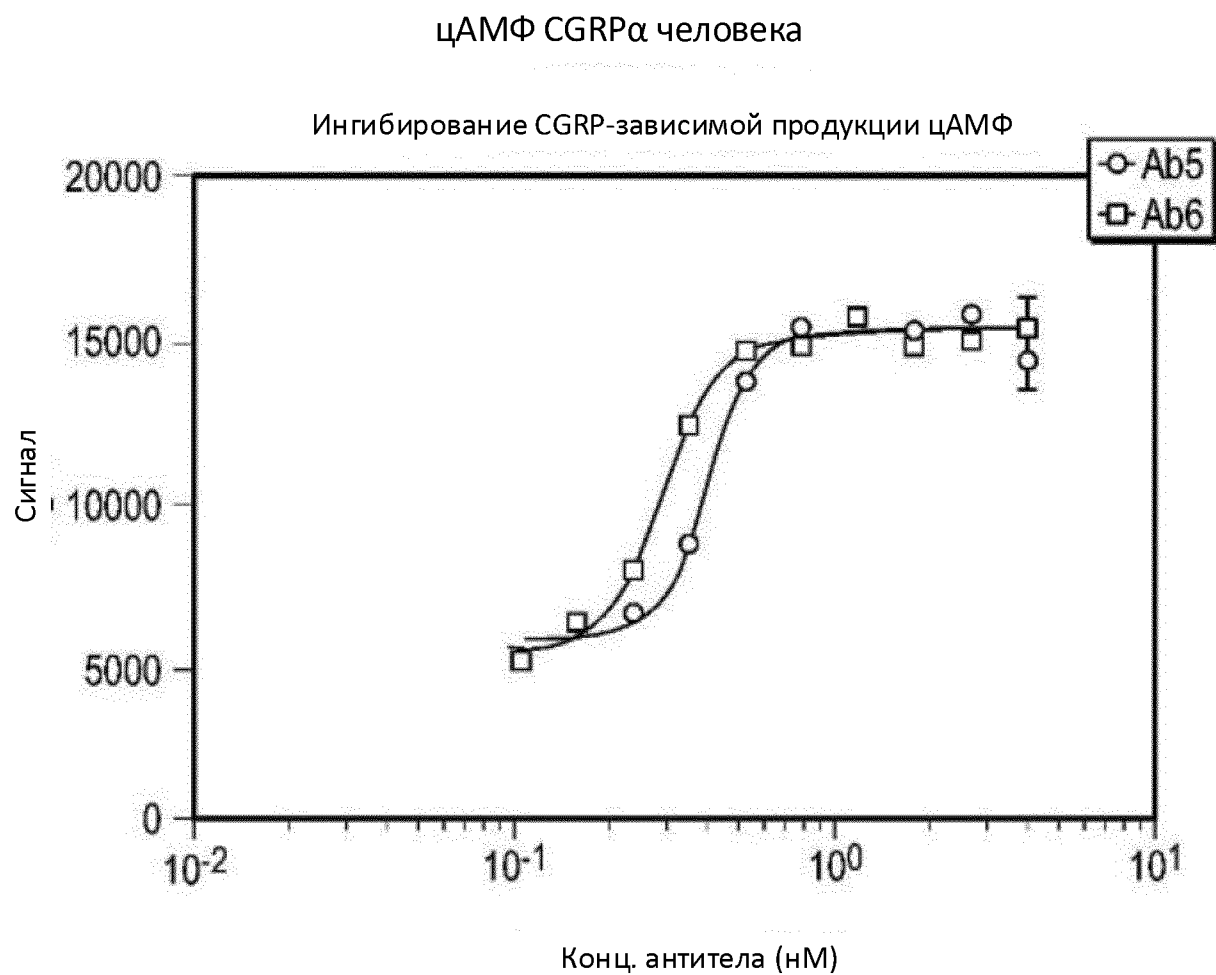
48/76



	IC50 (нМ)
Ab3	452

Фиг. 20

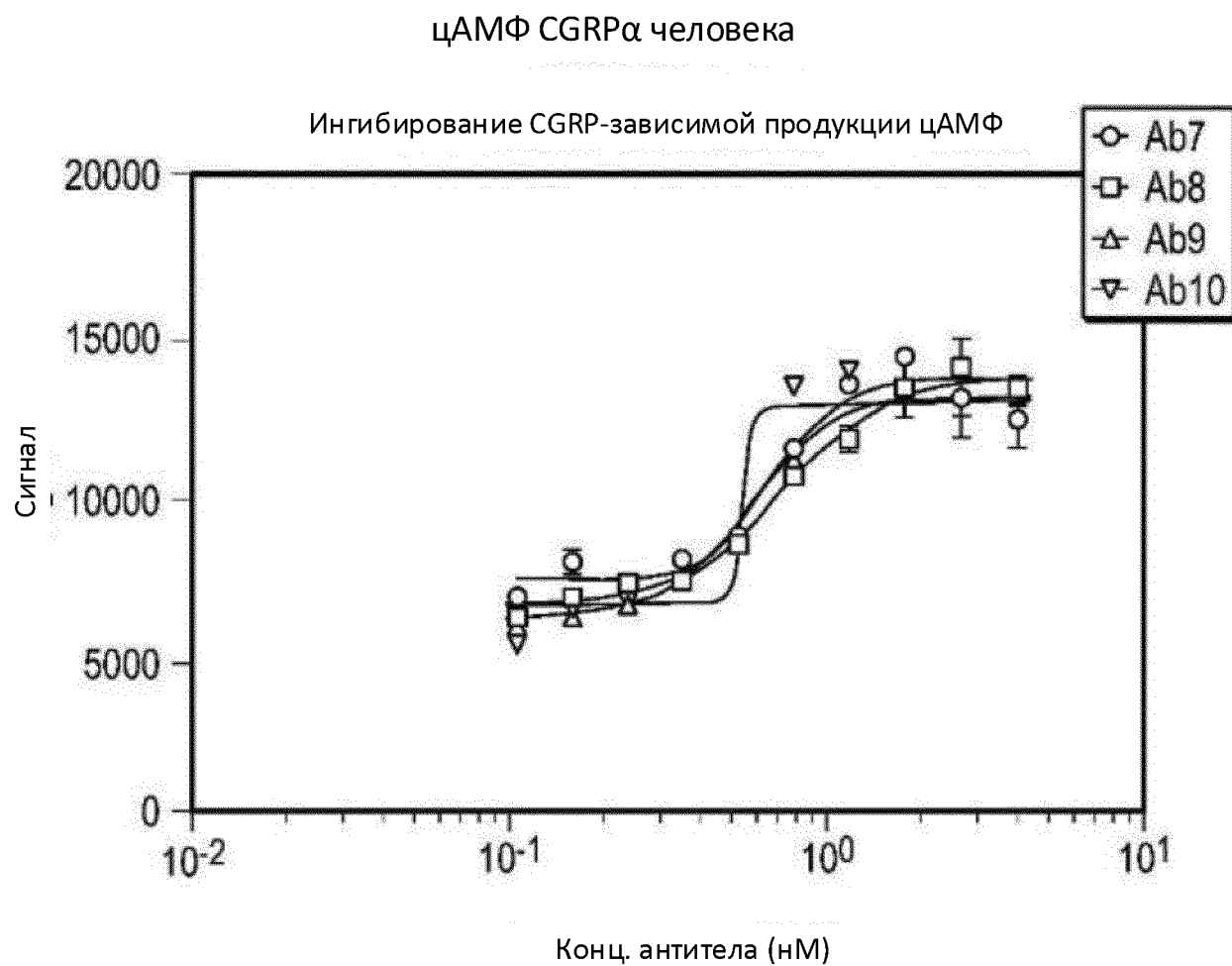
49/76



	IC50 (пМ)
Ab5	400
Ab6	288

Фиг. 21

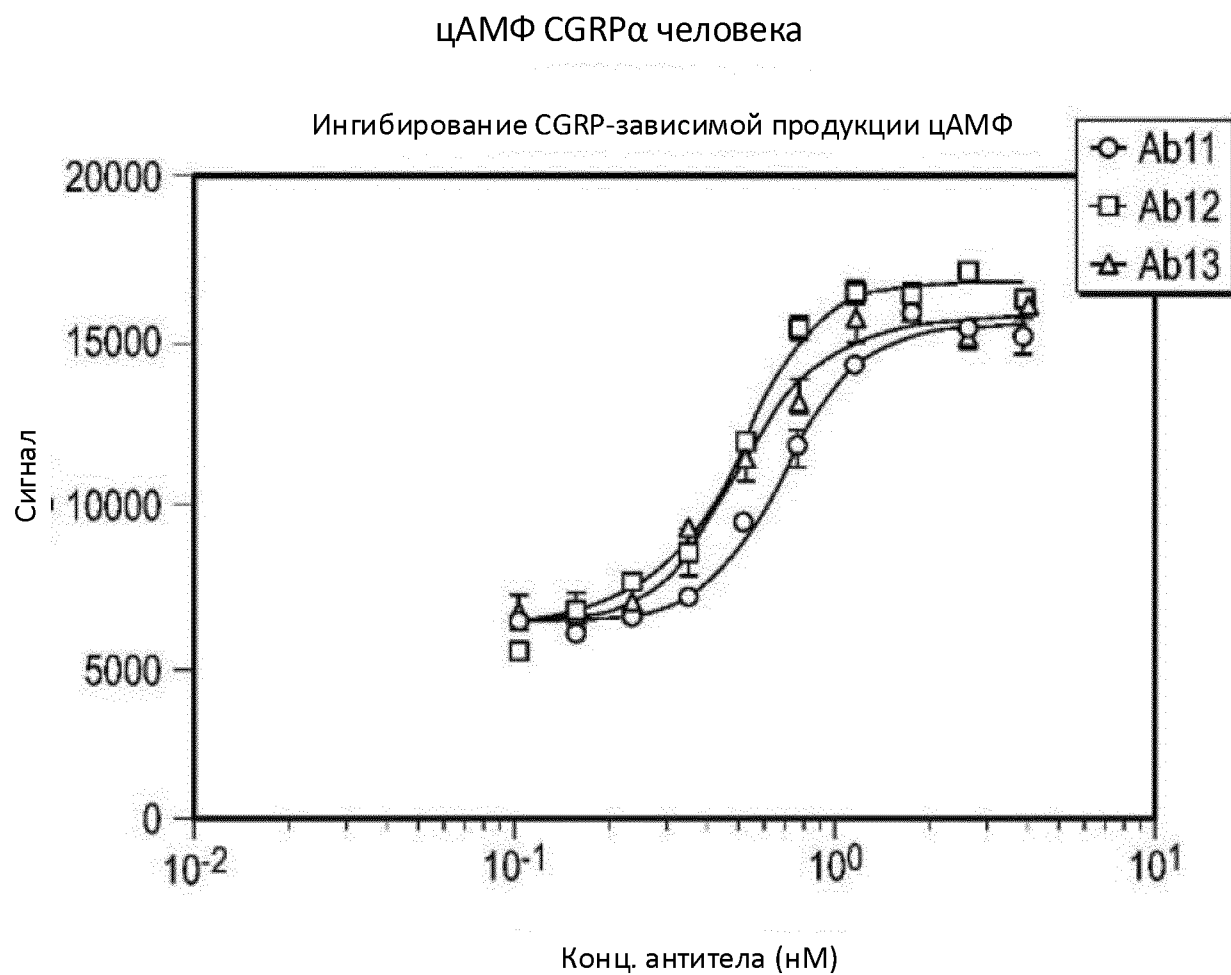
50/76



	IC50 (нМ)
Ab7	743
Ab8	734
Ab9	568
Ab10	542

Фиг. 22

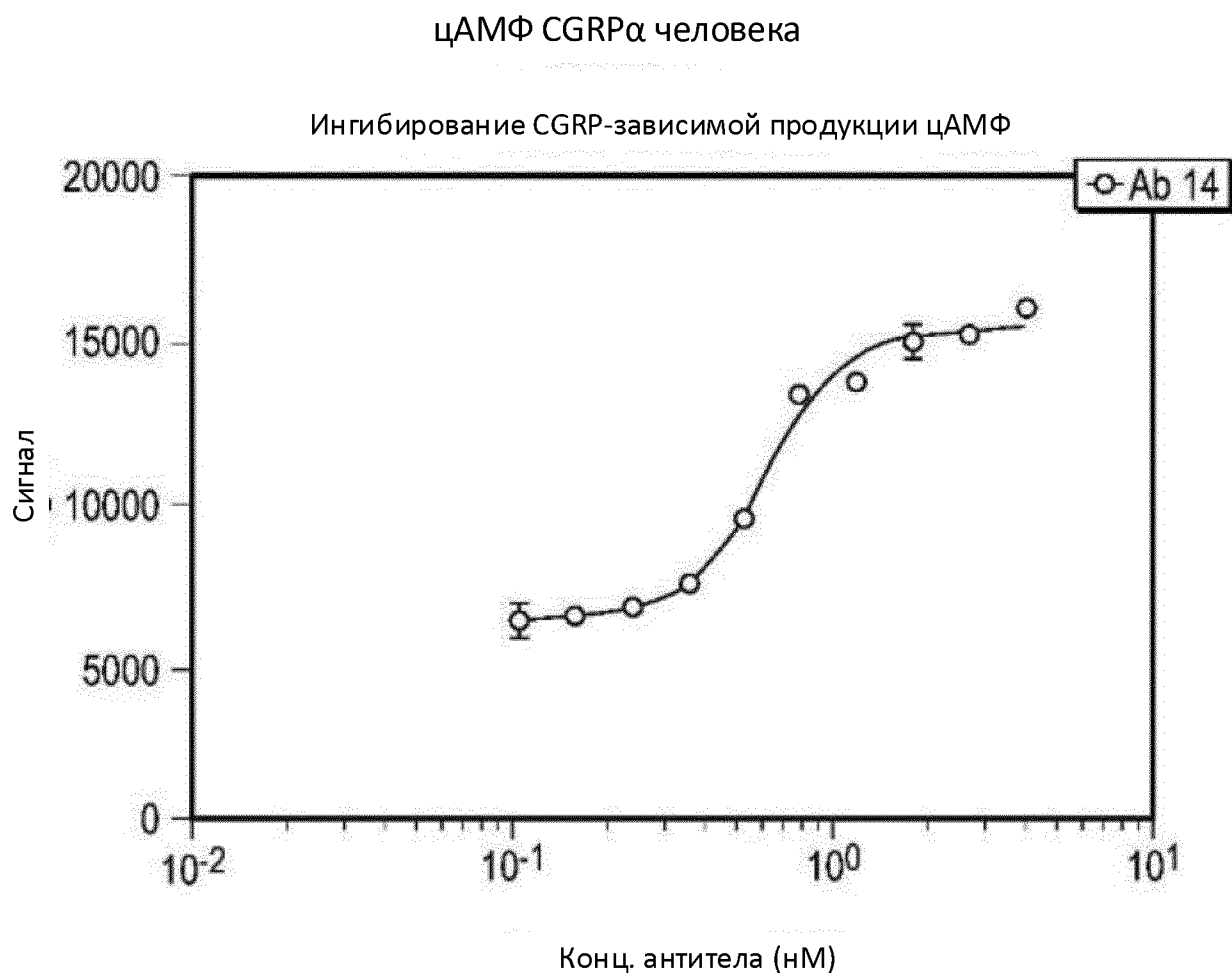
51/76



	IC50 (пМ)
Ab11	698
Ab12	511
Ab13	498

Фиг. 23

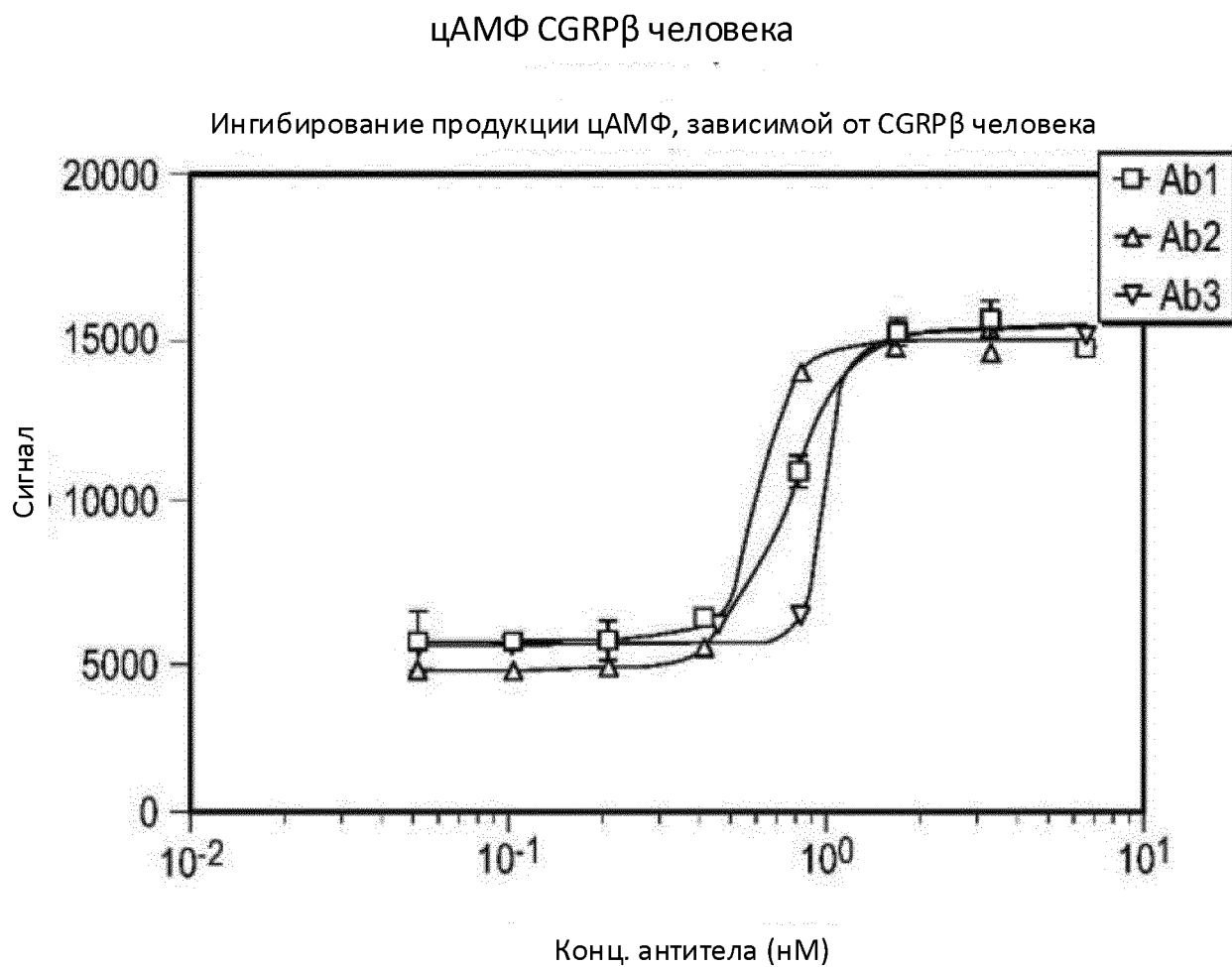
52/76



	IC50 (нМ)
Ab14	631

Фиг. 24

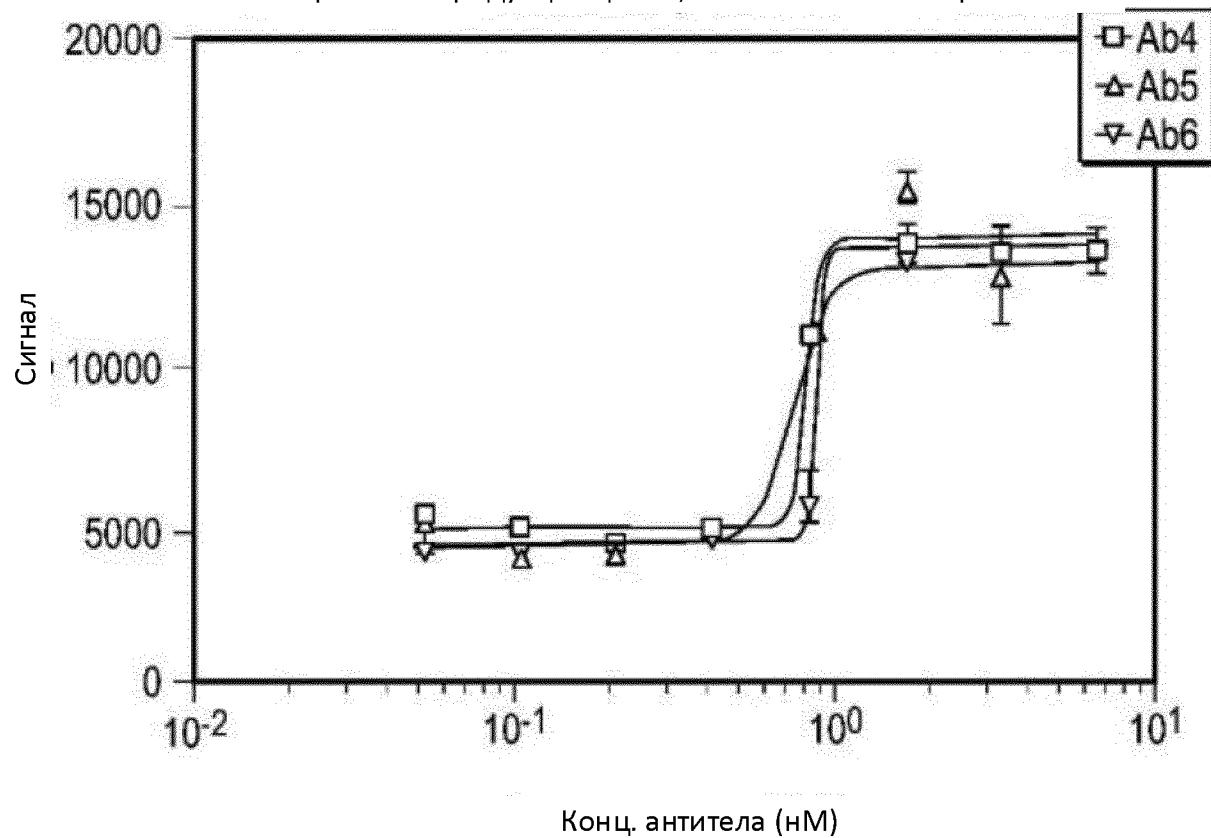
53/76



	IC50 (пМ)
Ab1	801
Ab2	601
Ab3	989

Фиг. 25

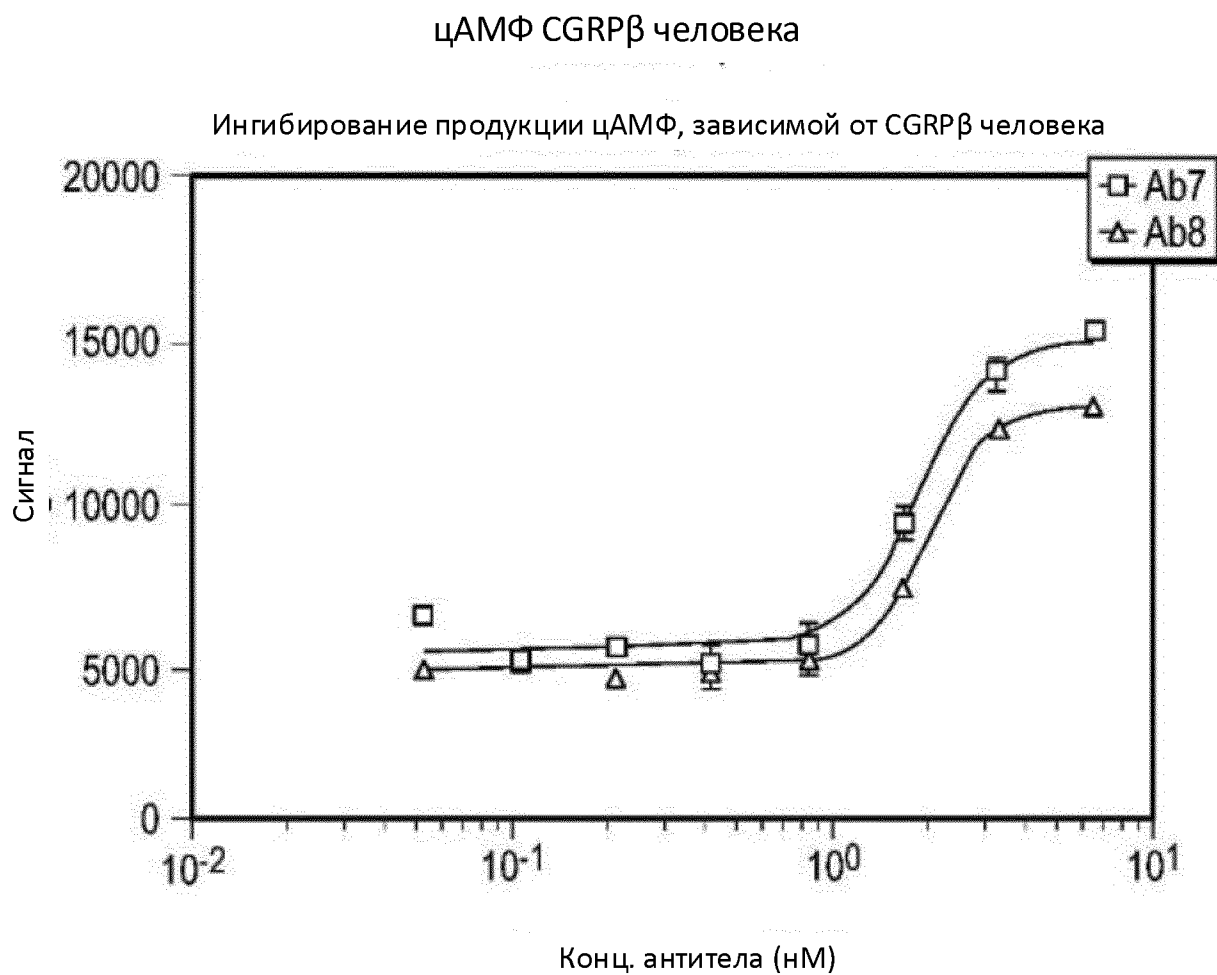
54/76

цАМФ CGRP β человекаИнгибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP β человека

	IC50 (нМ)
Ab4	805
Ab5	875
Ab6	740

Фиг. 26

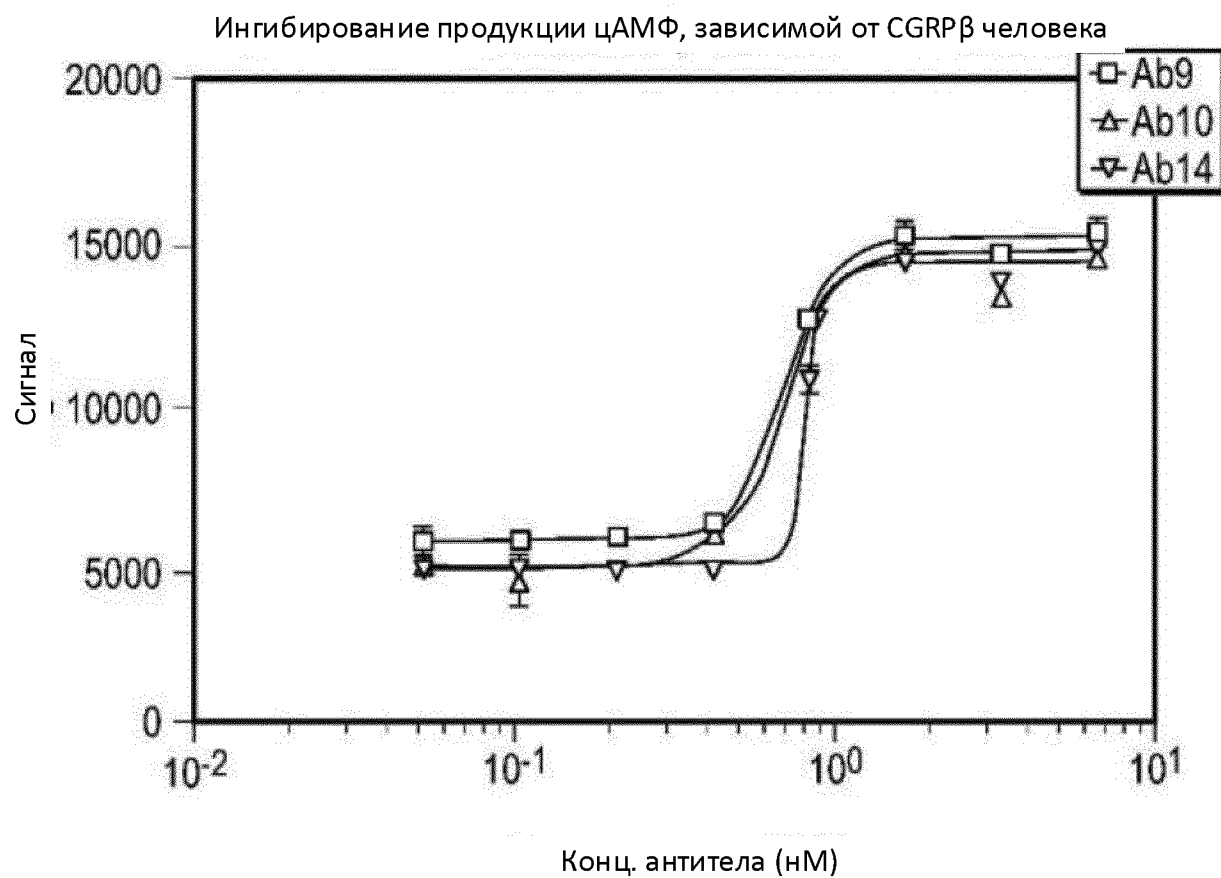
55/76



	IC50 (пМ)
Ab7	1858
Ab8	1981

Фиг. 27

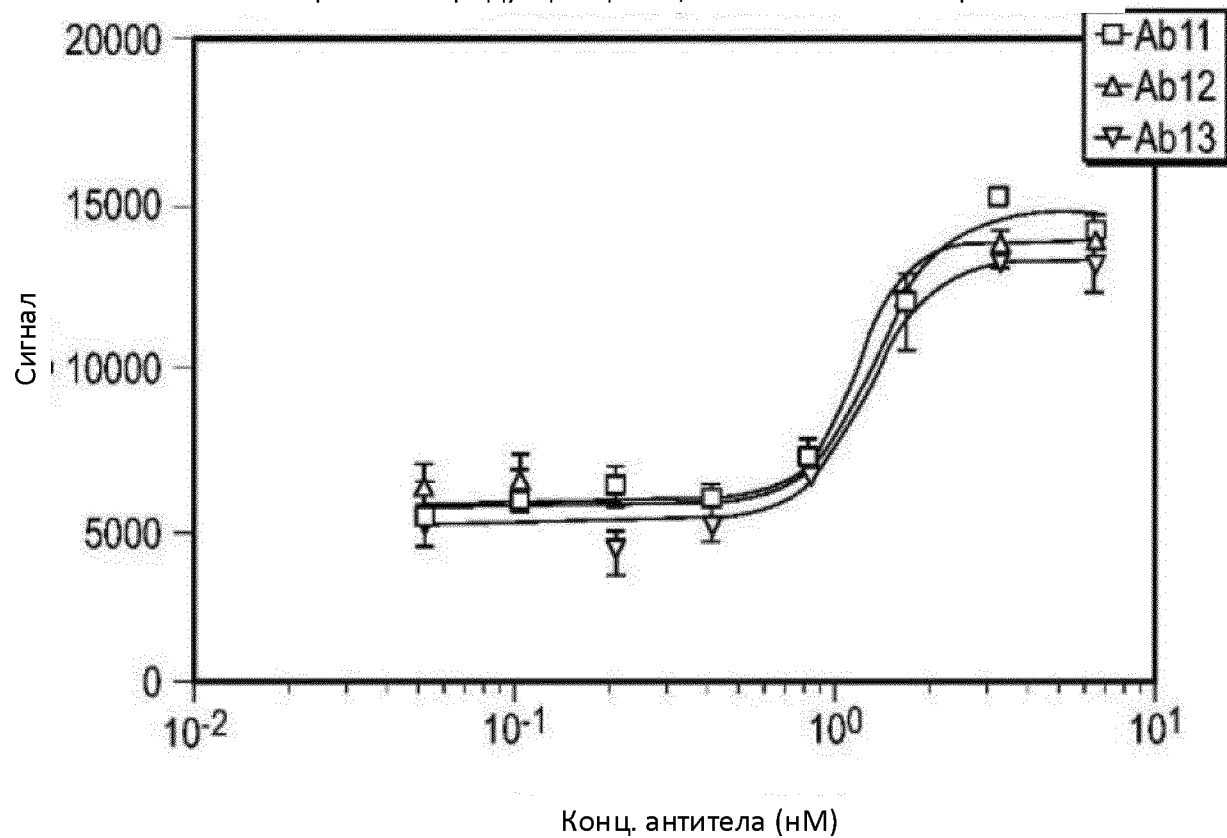
56/76

цАМФ CGRP β человека

	IC50 (пМ)
Ab9	716
Ab10	641
Ab14	812

Фиг. 28

57/76

цАМФ CGRP β человекаИнгибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP β человека

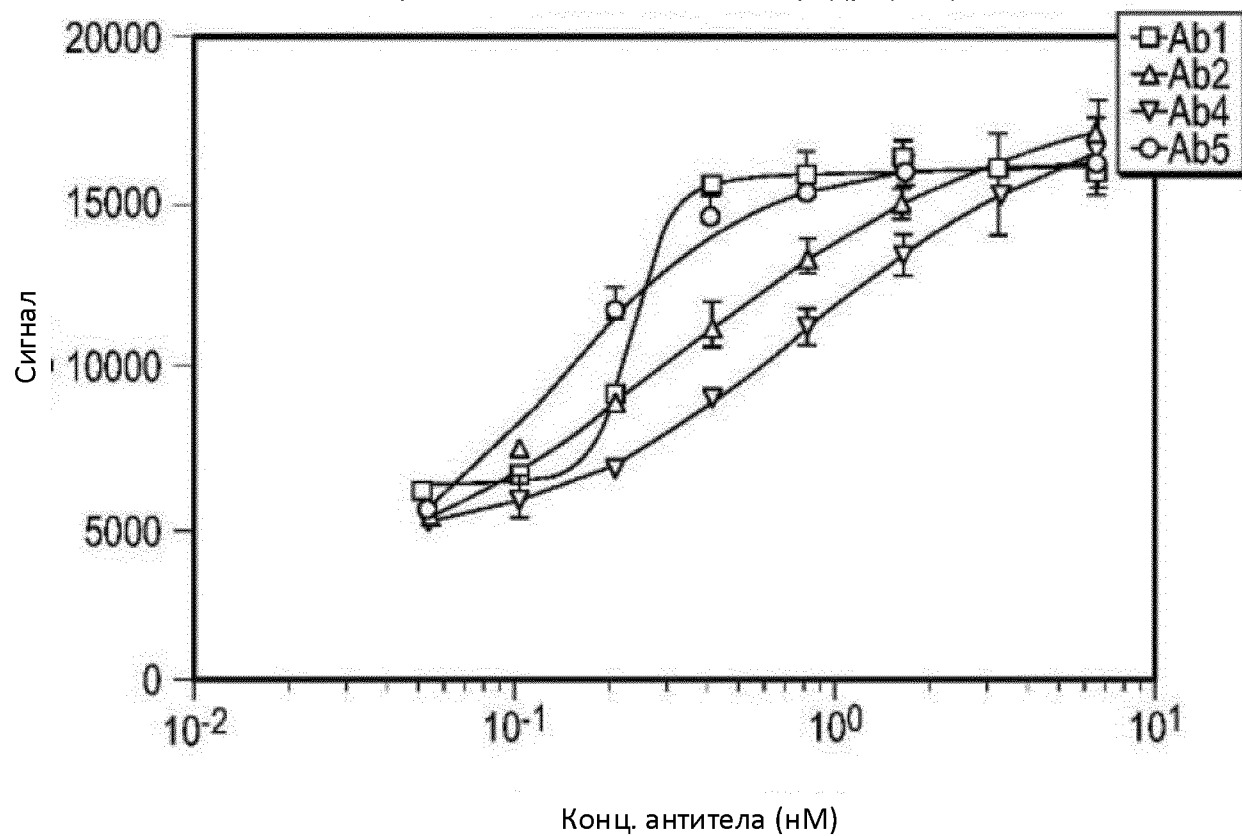
	IC50 (пМ)
Ab11	1344
Ab12	1181
Ab13	1276

Фиг. 29

58/76

цАМФ CGRP крысы

Ингибирование rtCGRP-зависимой продукции цАМФ

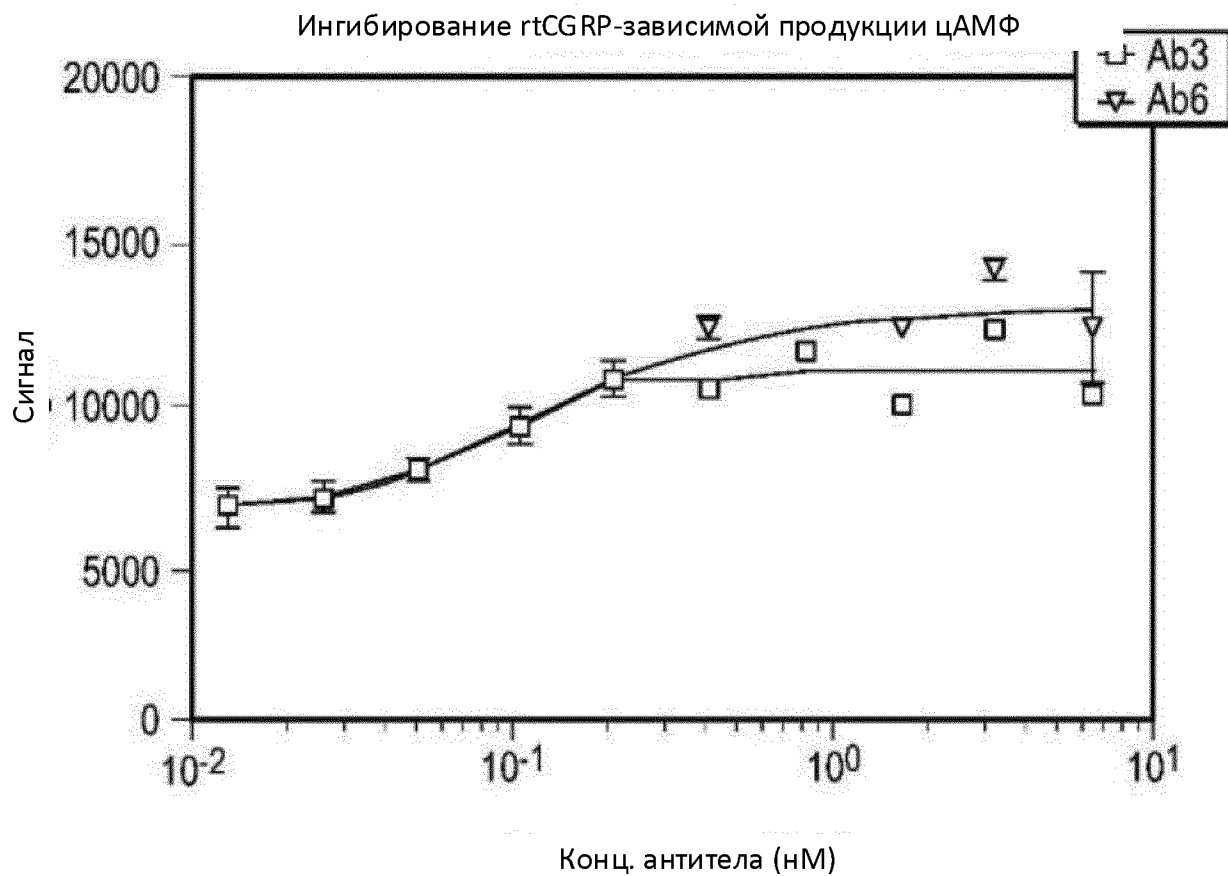


	IC50 (нМ)
Ab1	239
Ab2	142
Ab4	868
Ab5	334

Фиг. 30

59/76

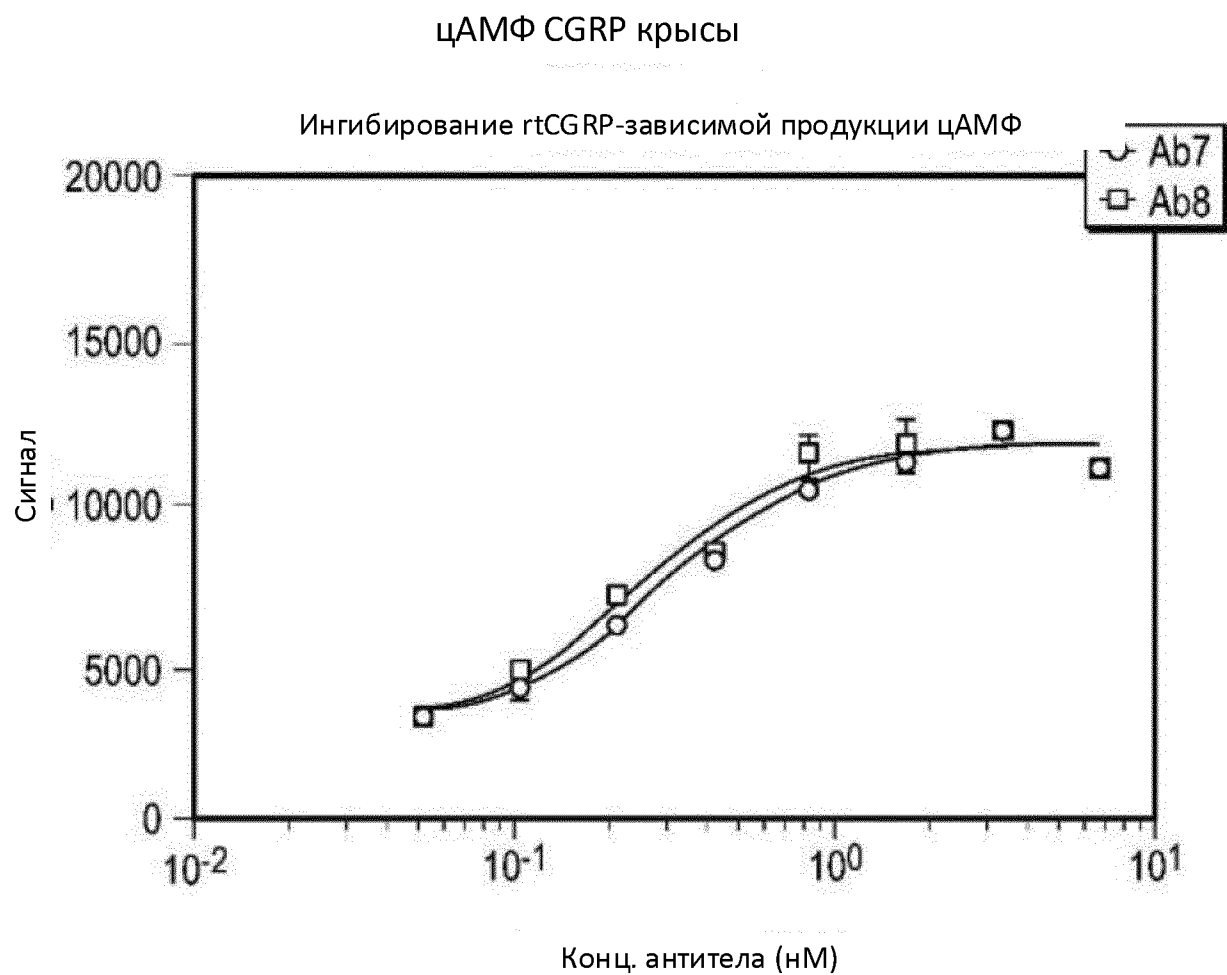
цАМФ CGRP крысы



	IC50 (нМ)
Ab3	85
Ab6	111

Фиг. 31

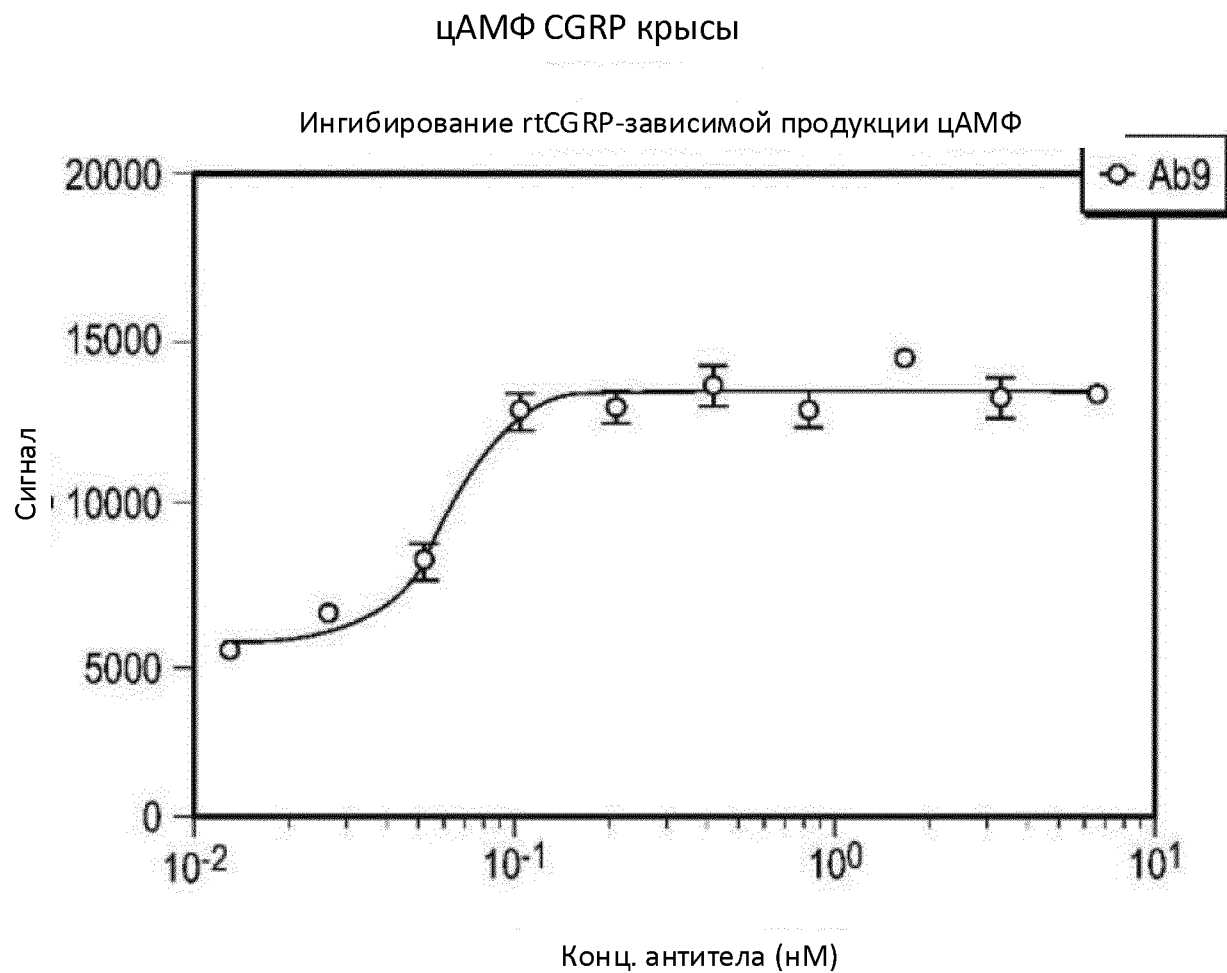
60/76



	IC50 (нМ)
Ab7	297
Ab8	243

Фиг. 32

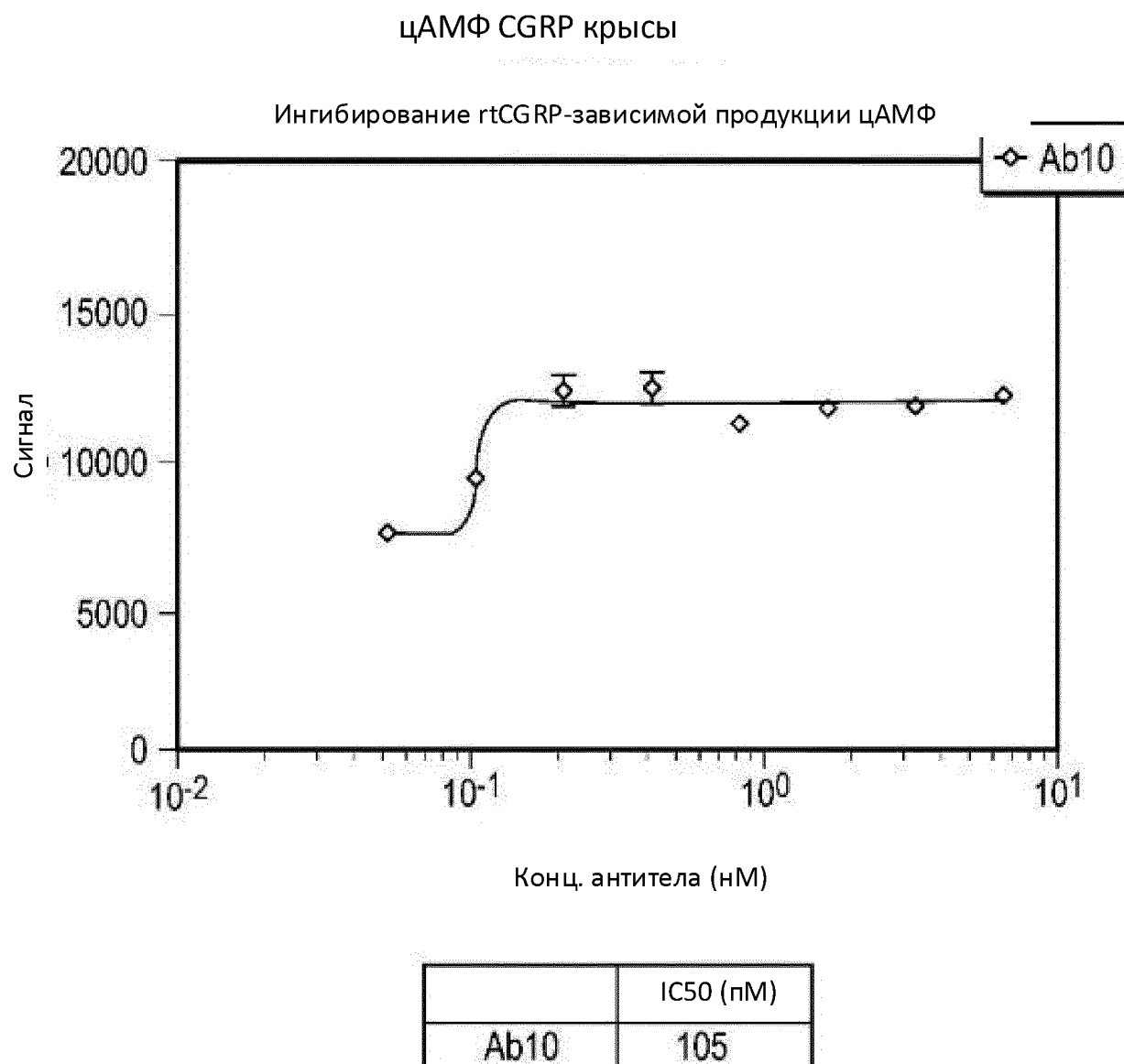
61/76



	IC50 (нМ)
Ab9	62

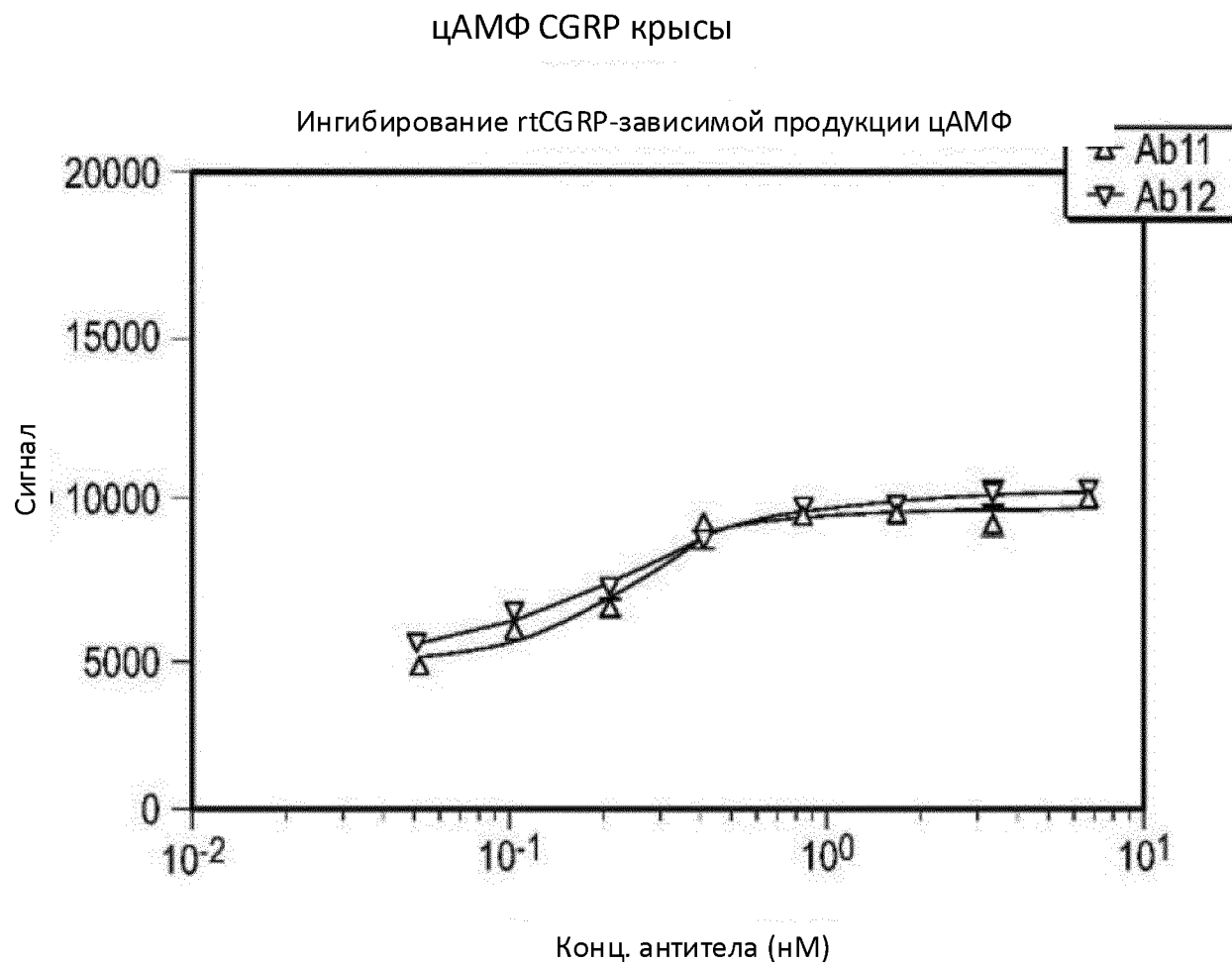
Фиг. 33

62/76



Фиг. 34

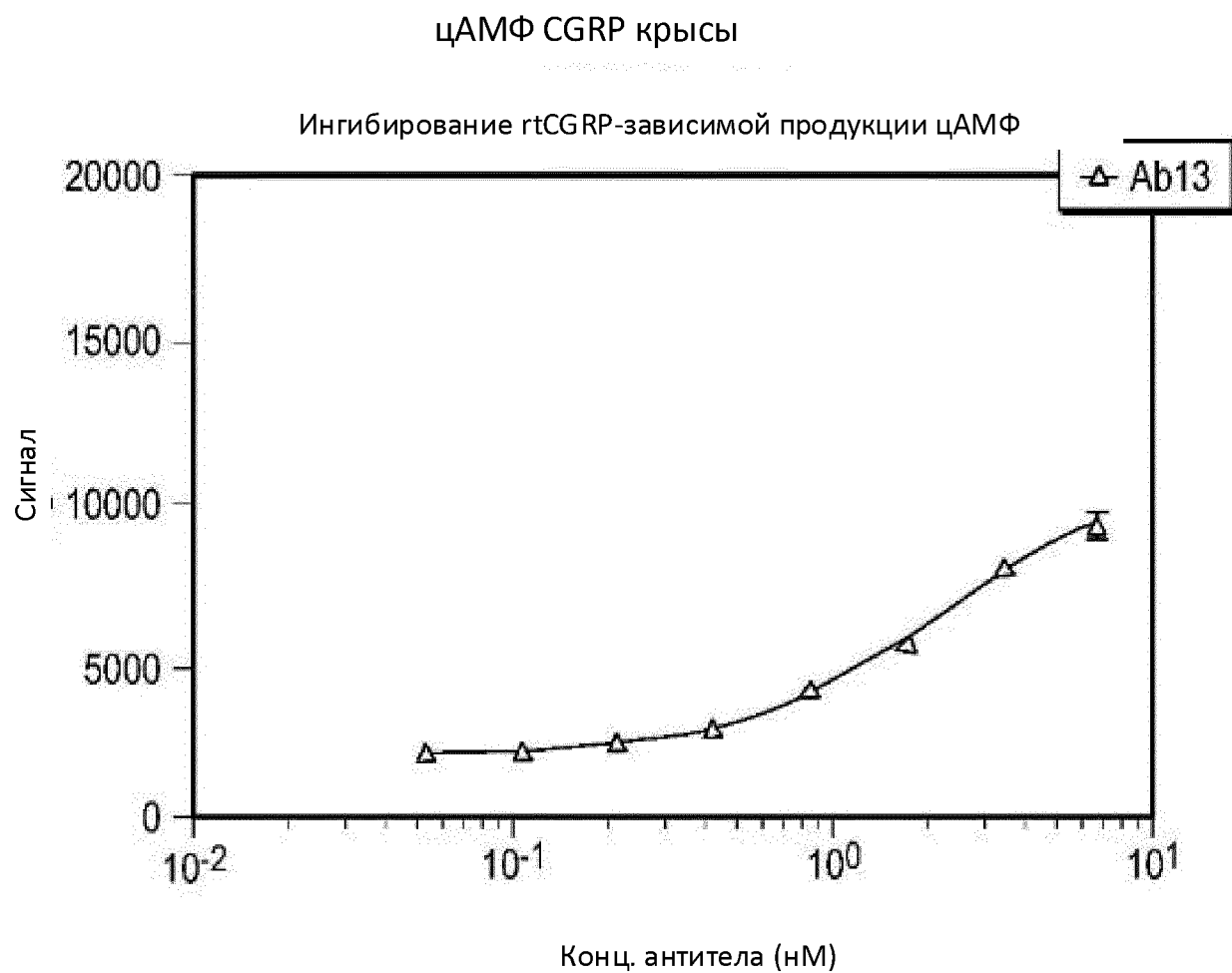
63/76



	IC50 (пМ)
Ab11	239
Ab12	236

Фиг. 35

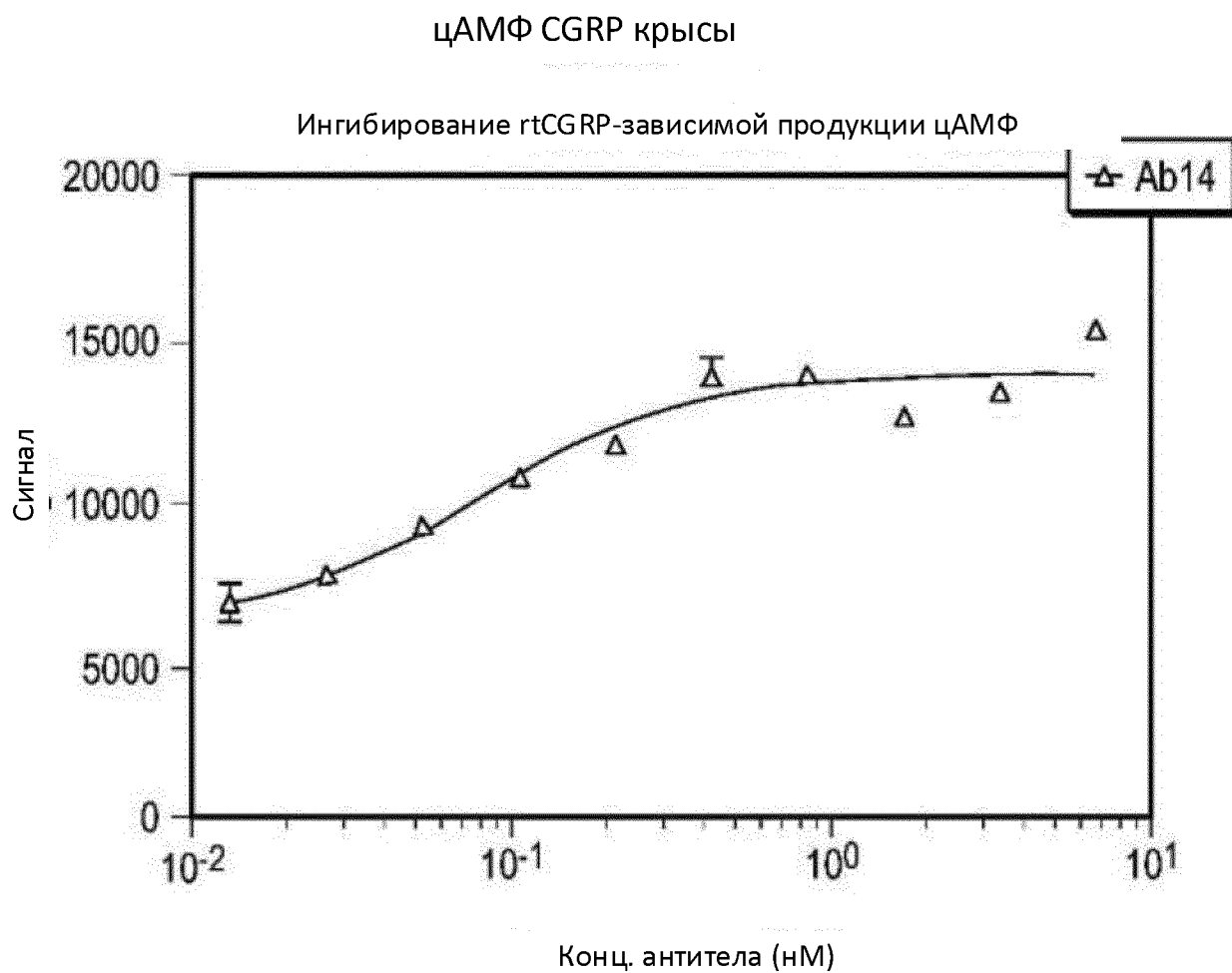
64/76



	IC50 (пМ)
Ab13	2036

Фиг. 36

65/76



	IC50 (пМ)
Ab14	81

Фиг. 37

66/76

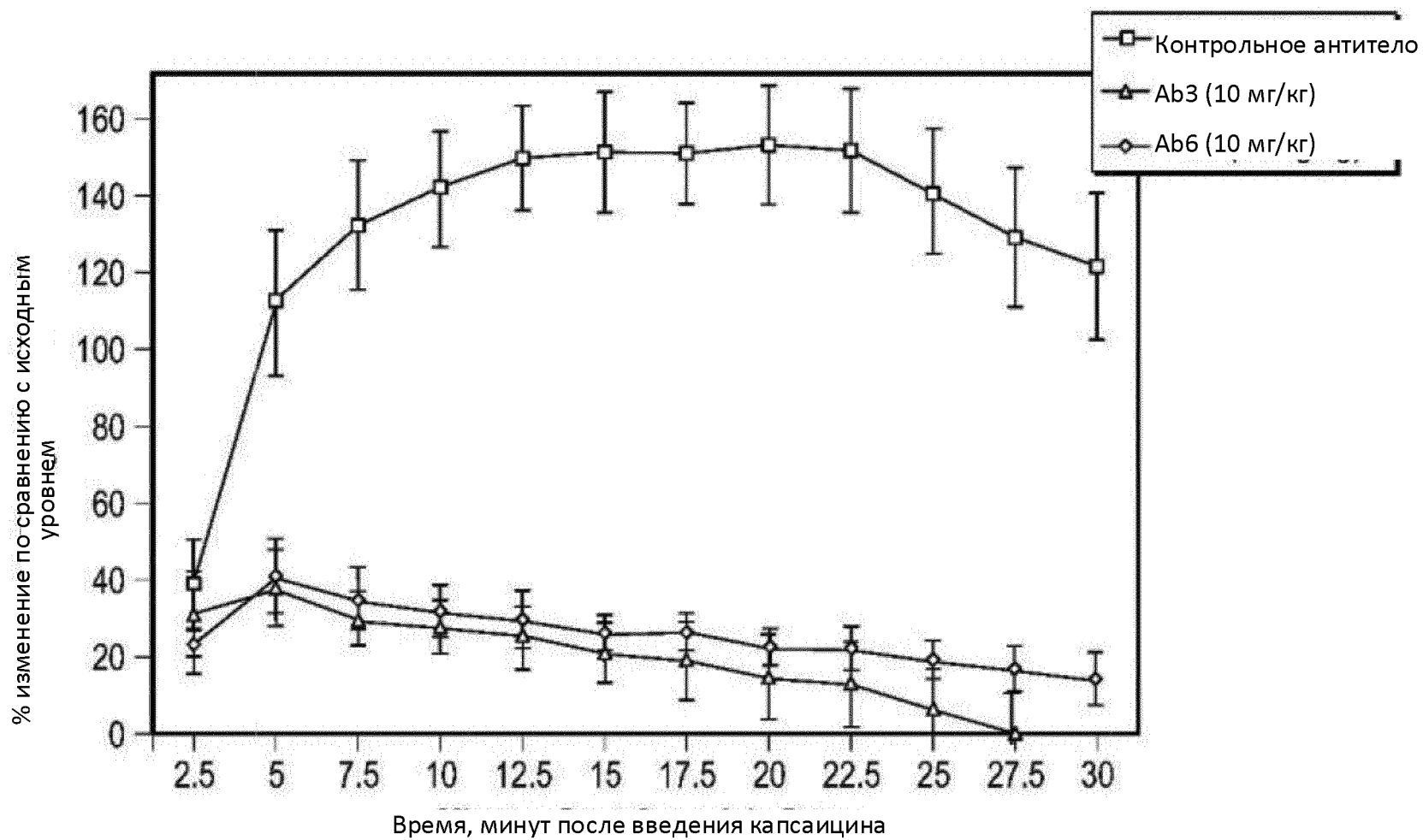
Ингибирование связывания радиолиганда

	IC₅₀ (нМ)	K_i (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

67/76

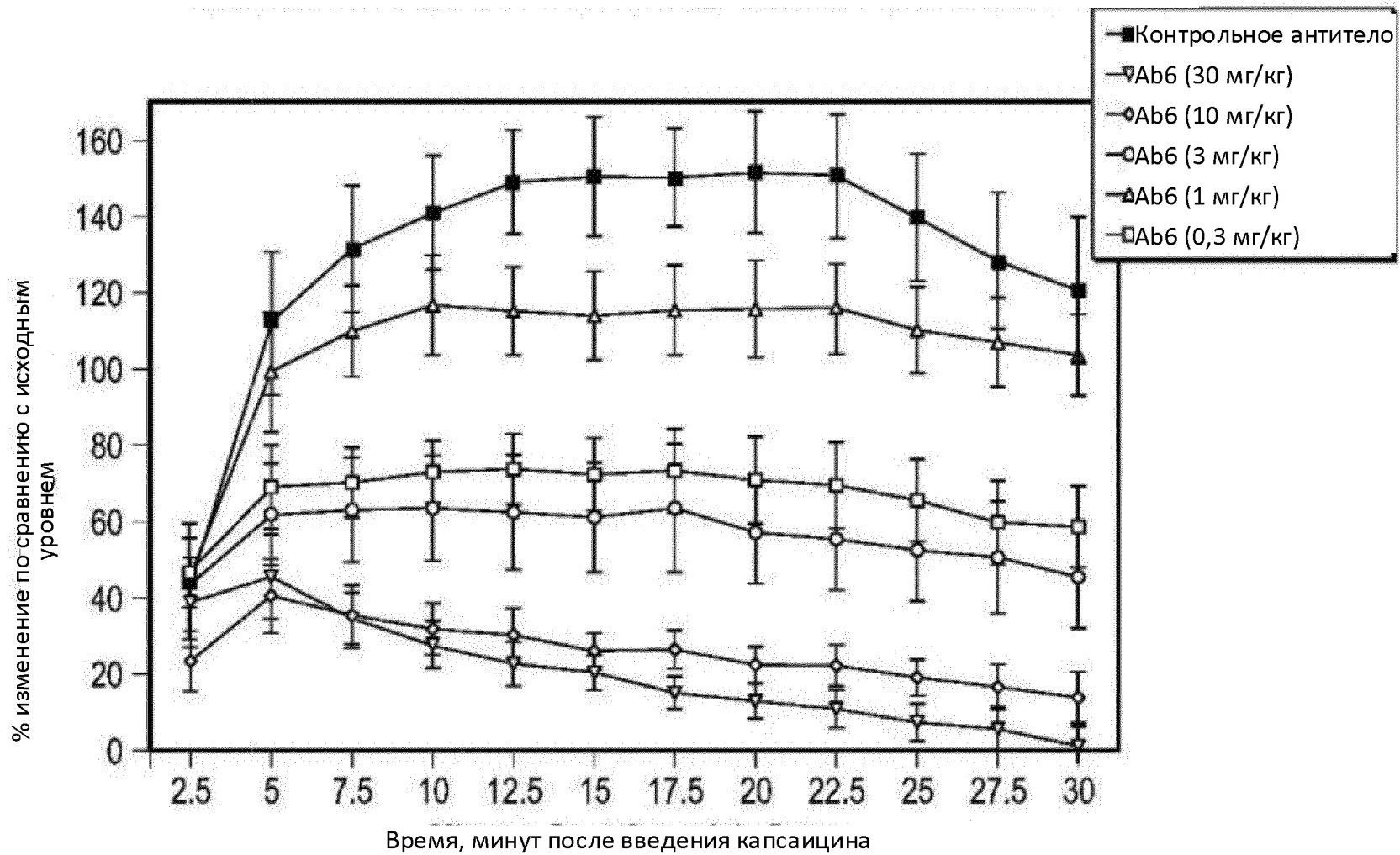
Снижение расширения сосудов после введения капсаицина



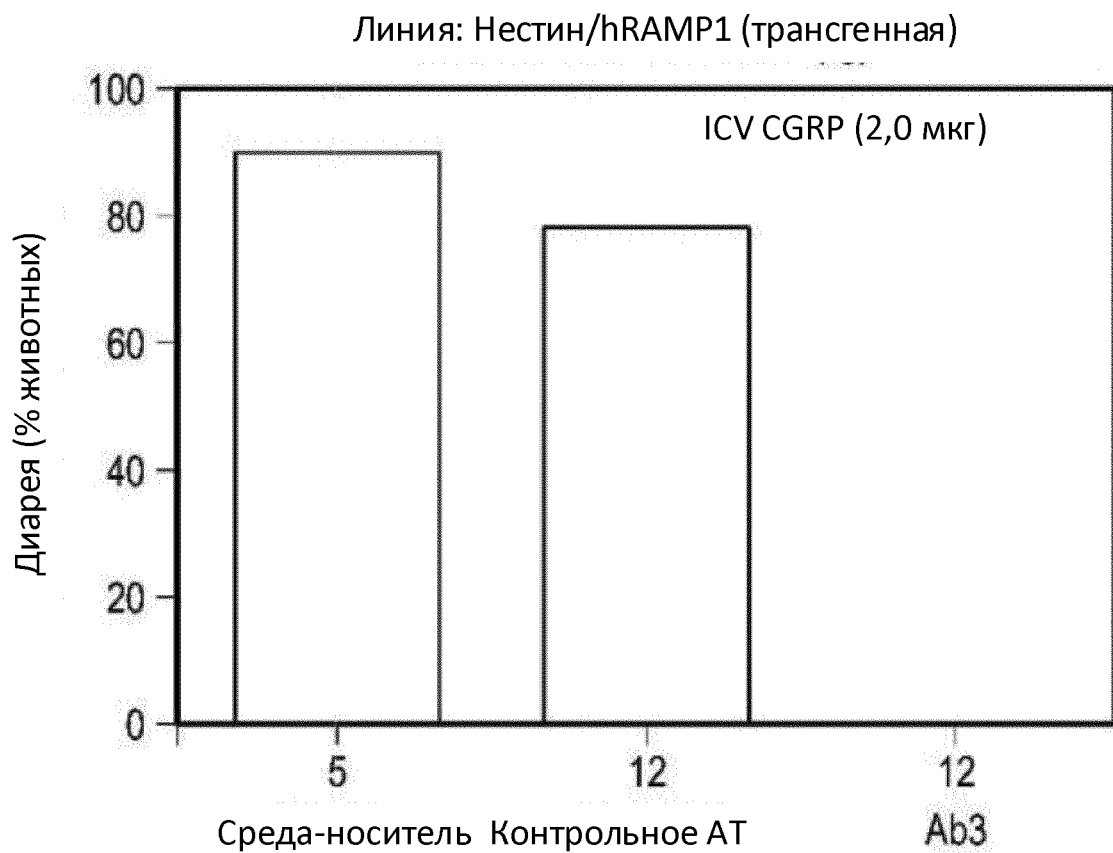
Фиг. 39

68/76

Снижение расширения сосудов после введения капсаицина



Фиг. 40

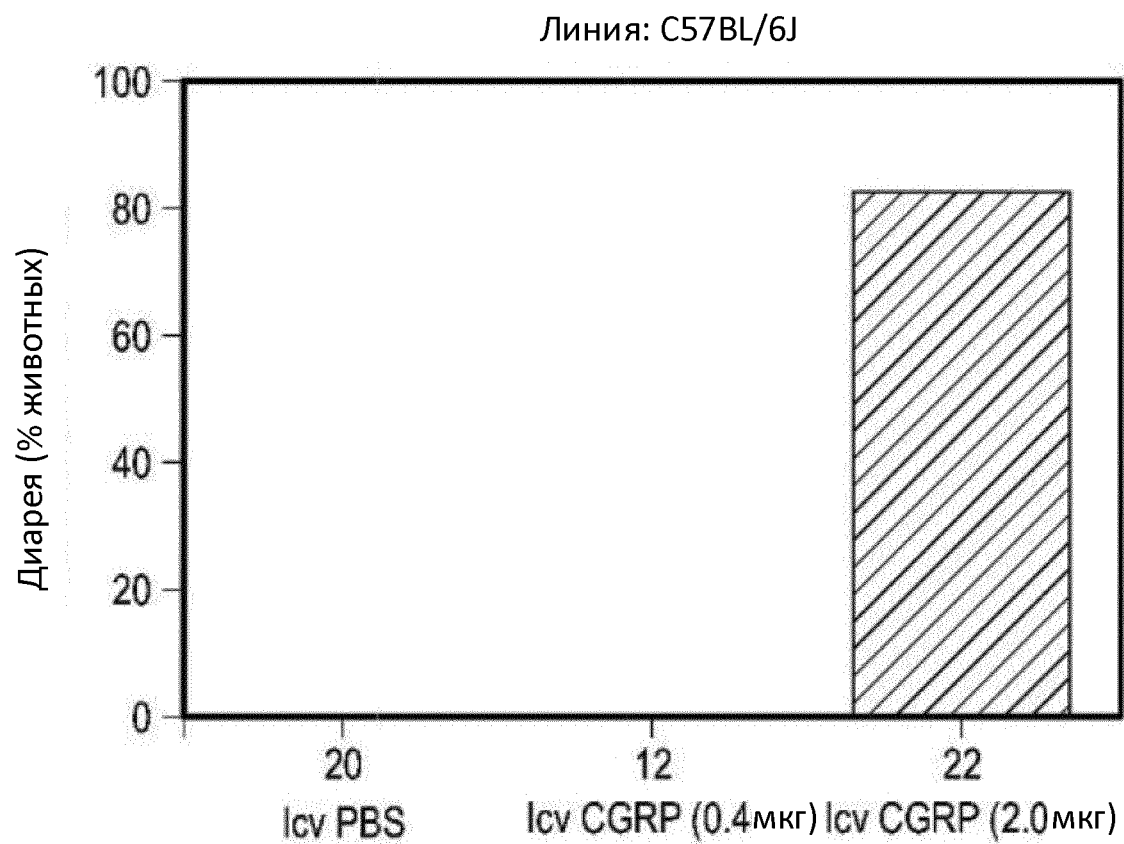


Фиг. 41

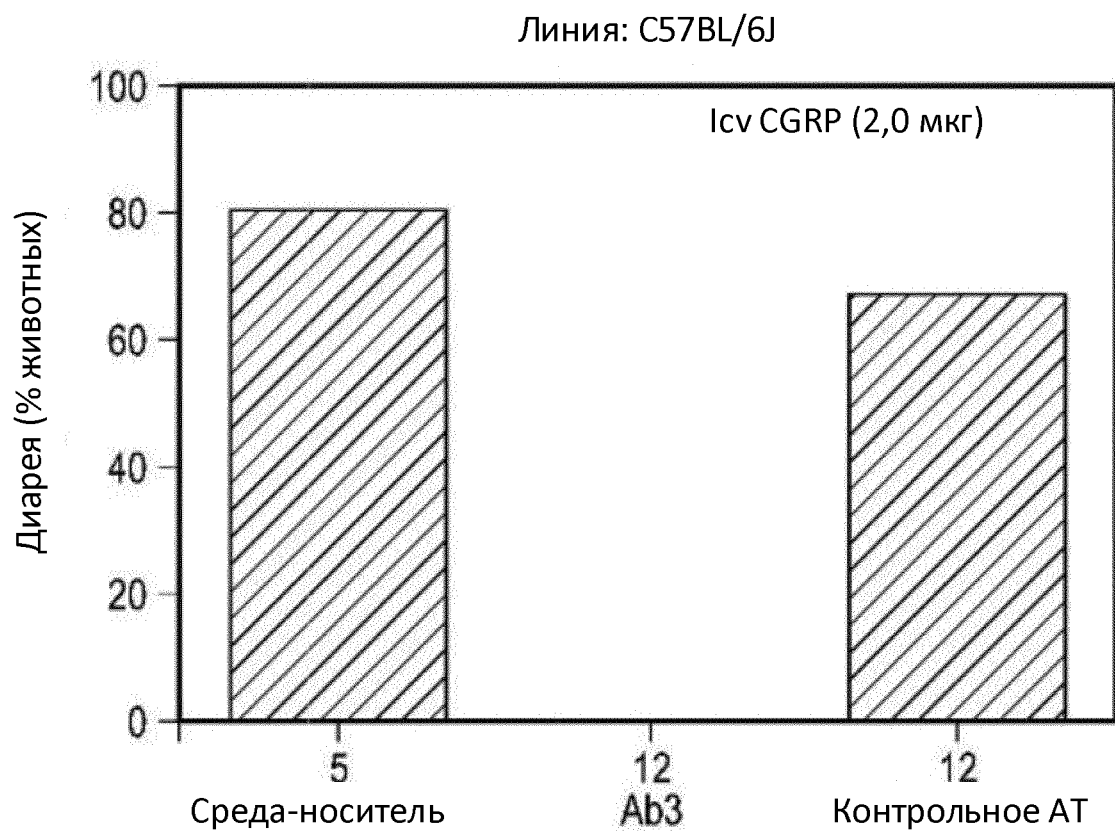
Внутриворинная инъекция Ab3 (30 мг/кг, ~ 24 ч до стимуляции CGRP) ингибировала диарею, вызванную ICV-инъекцией CGRP у трансгенных мышей нестин/hRAMP1.

70/76

Интрацеребровентрикулярная инъекция CGRP вызвала диарею у мышей C57BL/6J в зависимости от дозы.



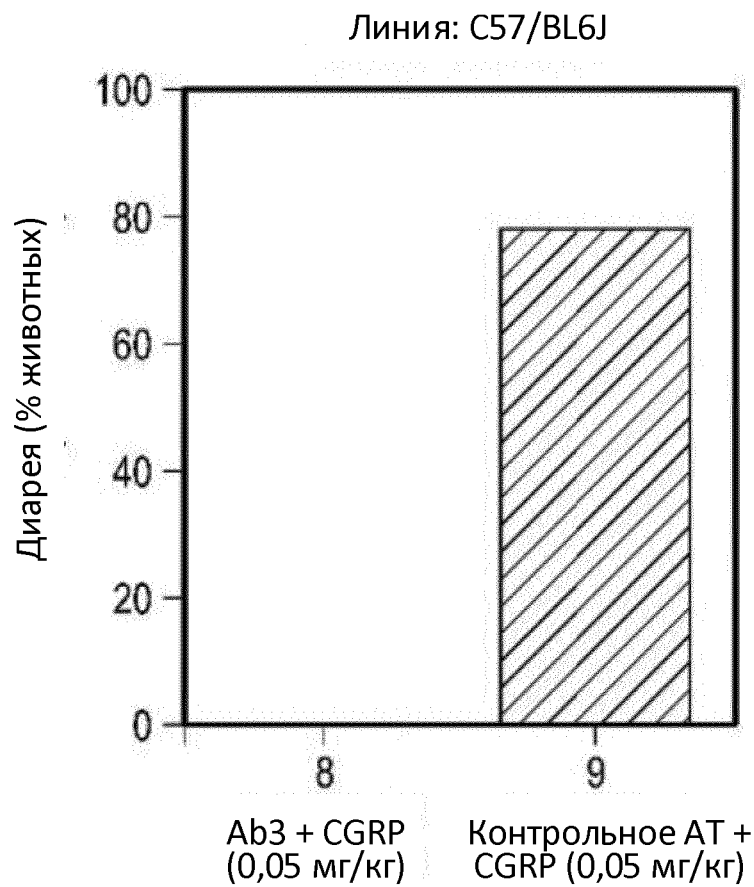
Фиг. 42



Фиг. 43

Внутрибрюшинная инъекция Ab3 (30 мг/кг, ~ 24 ч до стимуляции CGRP) ингибировала диарею, вызванную ICV-инъекцией CGRP у мышей C57/BL6J.

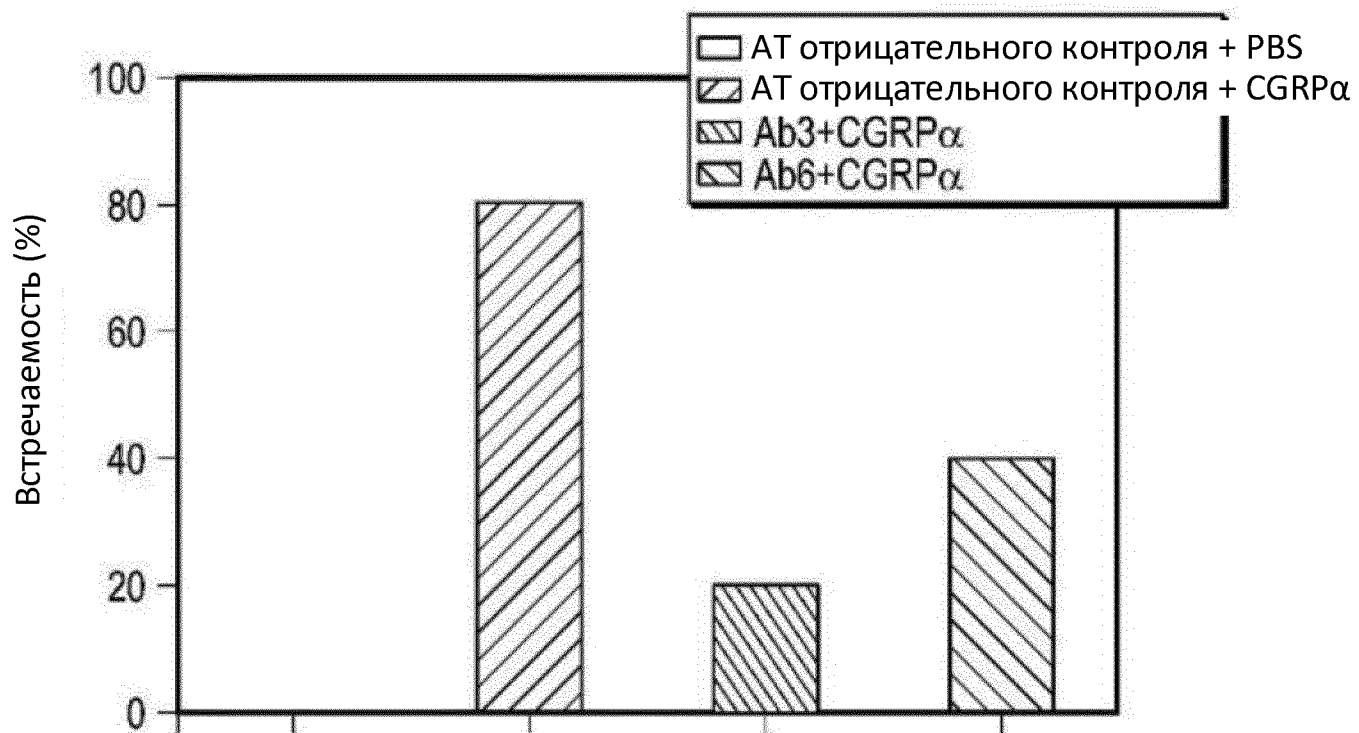
72/76



Ab3 (в/б инъекция 30 мг/кг, ~ 24 ч до стимуляции CGRP) ингибировала диарею, вызванную в/б инъекцией CGRP у мышей C57/BL6J.

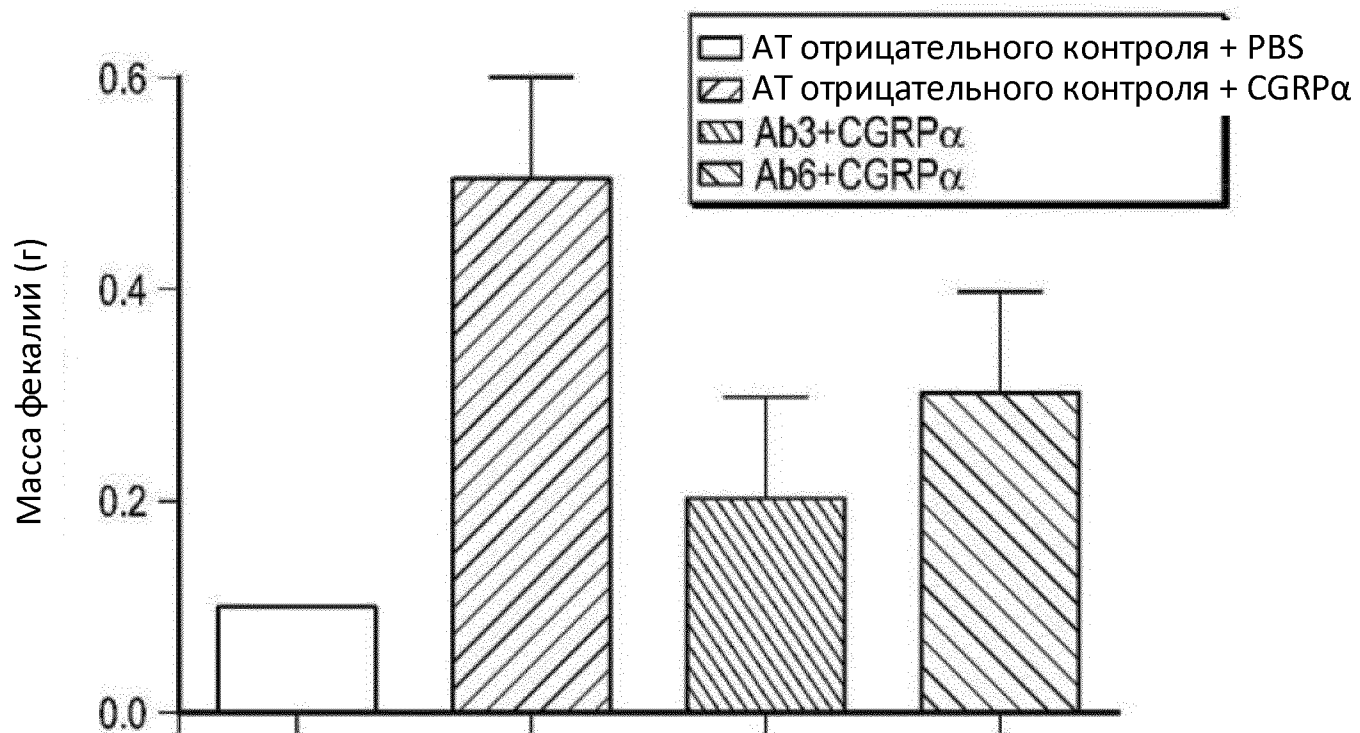
Фиг. 44

73/76



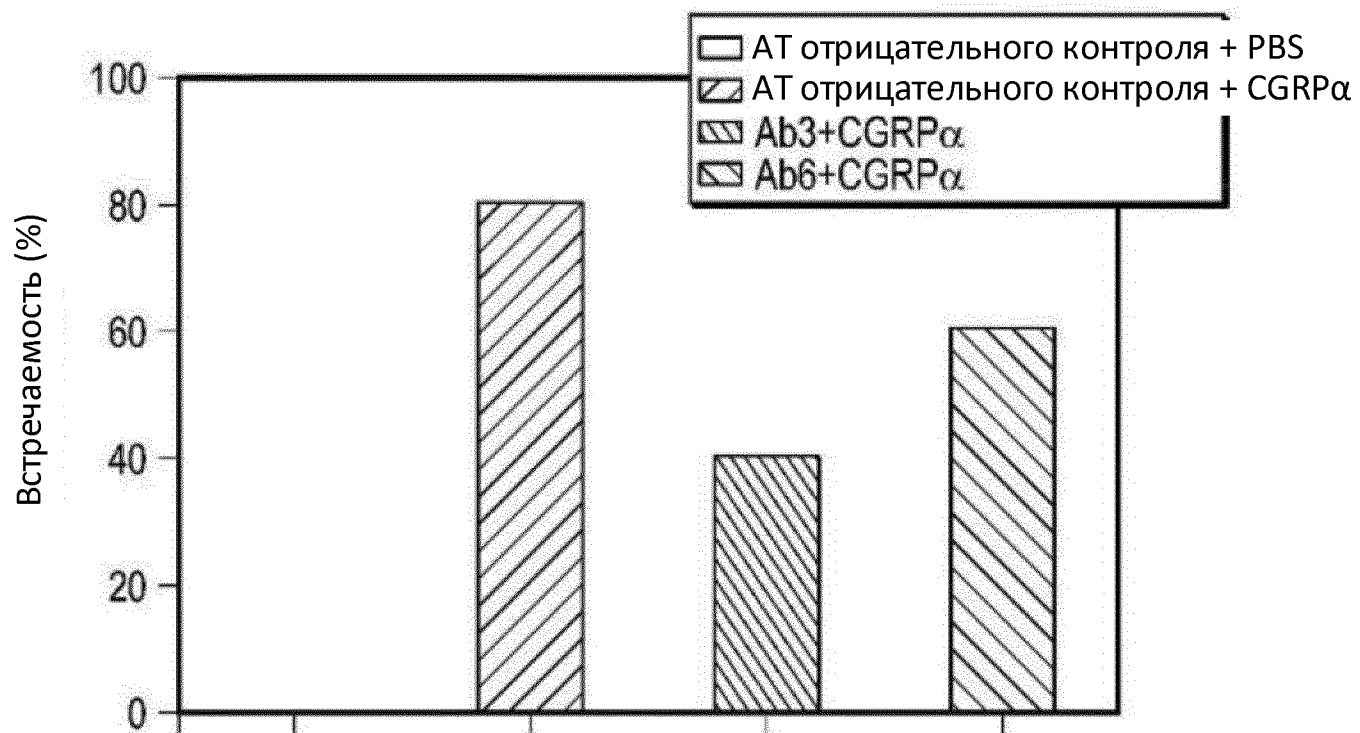
Фиг. 45

74/76



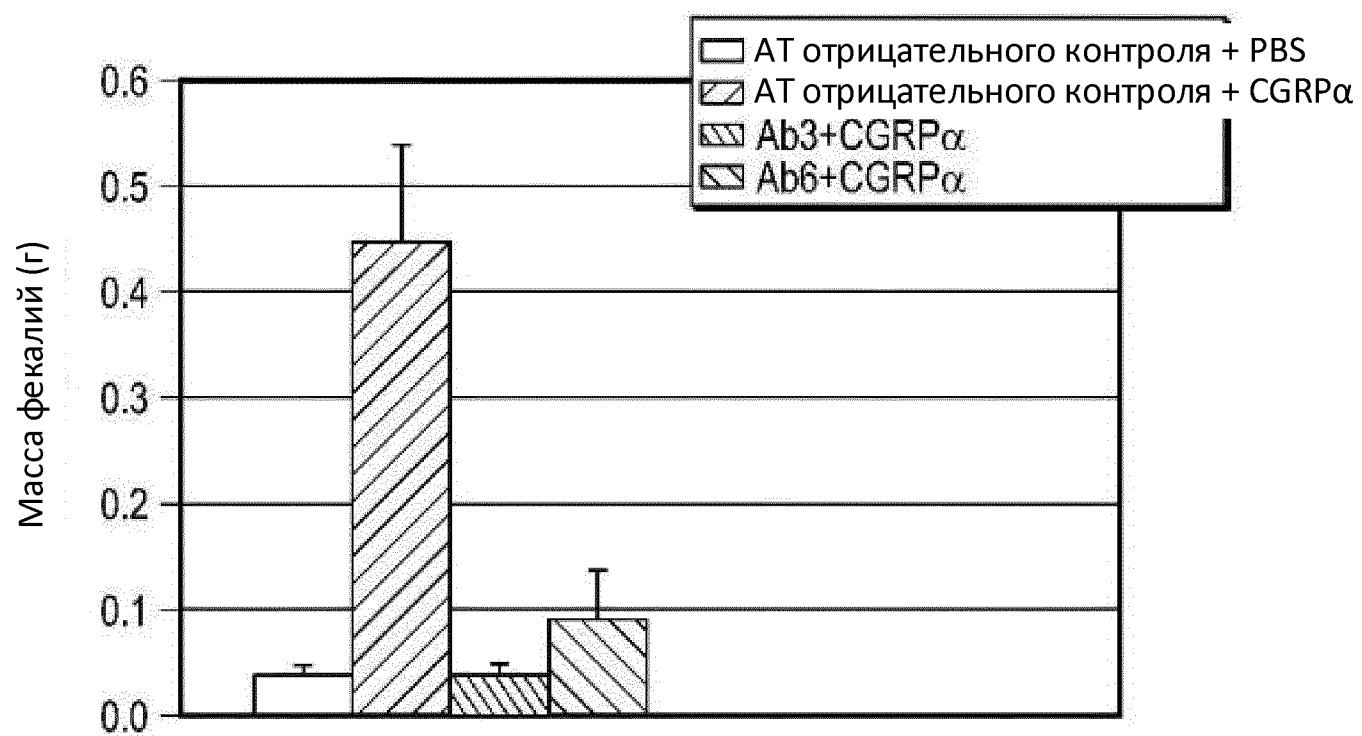
Фиг. 46

75/76



Фиг. 47

76/76



Фиг. 48