

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201992154** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.02.05

(22) Дата подачи заявки
2012.05.21

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

(54) ПРИМЕНЕНИЕ АНТИТЕЛ И ФРАГМЕНТОВ АНТИТЕЛ ПРОТИВ CGRP ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ИЛИ ИНГИБИРОВАНИЯ СВЕТОБОЯЗНИ ИЛИ ОТВРАЩЕНИЯ К СВЕТУ У СУБЪЕКТОВ, НУЖДАЮЩИХСЯ В ЭТОМ, В ОСОБЕННОСТИ СТРАДАЮЩИХ МИГРЕНЬЮ

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

(32) **2011.05.20; 2011.06.14**

(33) **US**

(62) **201301293; 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 Джефффри Т.Л.,
Гарсия-Мартинес Леон Ф. (US)**

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

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

A1

201992154

201992154

A1

**ПРИМЕНЕНИЕ АНТИТЕЛ И ФРАГМЕНТОВ АНТИТЕЛ ПРОТИВ CGRP ДЛЯ
ПРОФИЛАКТИКИ ИЛИ ИНГИБИРОВАНИЯ СВЕТОБОЯЗНИ ИЛИ
ОТВРАЩЕНИЯ К СВЕТУ У СУБЪЕКТОВ, НУЖДАЮЩИХСЯ В ЭТОМ, В
ОСОБЕННОСТИ СТРАДАЮЩИХ МИГРЕНЬЮ**

Родственные заявки

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет предварительной заявки США № 61/496860 (№ патентного реестра 67858.760000), поданной 14 июня 2011 г., под названием "USE OF ANTI-CGRP ANTIBODIES AND ANTIBODY FRAGMENTS TO PREVENT OR INHIBIT PHOTOPHOBIA IN SUBJECTS IN NEED THEREOF, ESPECIALLY MIGRAINE" и предварительной заявки США № 61/488660 (№ патентного реестра 67858.730300), поданной 20 мая 2011 г., под названием "ANTI-CGRP COMPOSITIONS AND USE THEREOF", каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

[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 21 мая 2012 г., - 67858o730305.txt, а ее размер составляет 203941 байт.

Уровень техники

Область изобретения

[0003] Настоящее изобретение относится к открытию того, что полипептиды, ингибирующие взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, и/или антитела и фрагменты антител, специфически связывающие CGRP или рецептор CGRP, можно применять для ингибирования CGRP-индуцированной светобоязни при их введении субъекту, нуждающемуся в этом. Полипептиды, ингибирующие взаимодействие CGRP/рецептор CGRP для использования в настоящем изобретении, включают, например, антитела и фрагменты антител, специфичные по отношению к CGRP или рецептору CGRP и фрагментам или вариантам CGRP или рецептора CGRP, которые ингибируют взаимодействие CGRP с рецепторами CGRP. Поскольку светобоязнь является неблагоприятным побочным эффектом, часто связанным со многими расстройствами, включая, например, мигрень с аурой и без нее, и другие состояния, характеризующиеся головной болью (а также другие показания, раскрытые ниже), то указанные ингибиторы взаимодействия CGRP-рецептор, например, антитела и фрагменты антител, специфичные

к CGRP или рецептору CGRP, должны быть пригодны для ингибирования светобоязни, часто связанной с мигренью и другими состояниями, характеризующимися головной болью, а также для лечения других состояний, связанных со светобоязнью. Результаты также показывают, что указанные антитела и фрагменты антител можно применять для предотвращения возникновения светобоязни у субъектов, нуждающихся в этом, например, у лиц с хронической светобоязнью в анамнезе, например, светобоязнью, возникающей в результате мигрени (с аурой или без нее), других состояний, характеризующихся головной болью, депрессией, агорафобией или другими состояниями, подверженными светобоязни, если указанные антитела вводят в профилактических целях. Изобретение предполагает применение указанных антител и фрагментов антител против CGRP в качестве монотерапии или в составе терапевтических схем с другими активными агентами, например, анальгетиками, опиоидами, антидепрессантами или другими активными веществами в зависимости от состояния и индивидуума, подвергаемого лечению.

[0004] Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способы скрининга ингибиторов взаимодействия CGRP-рецептор, 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") или рецептором CGRP в специфических животных моделях для определения их эффектов *in vivo*, в особенности их способности противодействовать побочным эффектам CGRP, связанным со светобоязнью, и лечить состояния, связанные со светобоязнью, в том числе, например, мигрень.

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): 1261-78 (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): 1261-78 (2001).

[0007] Мигрень представляет собой нервно-сосудистое расстройство, поражающее приблизительно 10% взрослого населения в США, и, как правило, сопровождающееся интенсивными головными болями. Примерно 20-30% страдающих мигренью испытывают ауру, включающую очаговые неврологические явления, предшествующие и/или сопровождающие это событие. Считают, что CGRP играет заметную роль в развитии мигрени. Например, выявлено, что концентрации CGRP в плазме повышаются в крови яремной вены в течение фазы головной боли при мигрени, в отличие от других нейропептидов. Кроме того, согласно Arulmozhi et al, у лиц, страдающих мигренью, выявлены: (1) строгая корреляция между концентрацией CGRP в плазме и мигренью; (2) вливание CGRP приводит к мигренеподобной головной боли; (3) повышены исходные уровни CGRP; и (4) изменения уровней CGRP в плазме во время приступов мигрени значительно коррелируют с интенсивностью головной боли. Arulmozhi, D.K., et al., *Vas. Pharma.*, 43: 176-187 (2005). Кроме того, в *Journal of the International Association for the Study of Pain* PII:S0304-3959(11)00313-7; doi:10.1016/j.pain.2011.04.033, опубликованном в сети 6 июня 2011 г., Hou et al. сообщили, что экспрессия пептида 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, помимо мигрени, играет важную роль при многочисленных заболеваниях и нарушениях, включая, но не ограничиваясь другими состояниями, характеризующимися головной болью, и болью. В связи с предполагаемой вовлеченностью CGRP в указанные заболевания и расстройства, в данной области техники остается потребность в композициях и способах, используемых для профилактики или лечения заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP, при отсутствии неблагоприятных побочных эффектов. В данной области техники остается особая потребность в композициях или способах, снижающих или подавляющих светобоязнь при заболеваниях или расстройствах, связанных с CGRP, например, мигрени, головной боли и боли.

[0011] У больных мигренью при воздействии света обычно развиваются ухудшение боли и симптомы мигрени; это явление известно как светобоязнь. Светобоязнь также часто встречается при глазных заболеваниях, например, ирите и увеите, и внутричерепных расстройствах, например, менингите. В классическом зрительном пути свет активирует палочки и колбочки сетчатки, которые активируют ганглиозные клетки сетчатки, проецирующиеся через оптический нерв на латеральное колленчатое тело, верхнее двухолмие, а затем в зрительную кору. Этот путь включает данные, формирующие и не формирующие изображение. Новый путь (информация, не формирующая изображение) позволяет поддерживать нормальные циркадные ритмы через супрахиазмальное ядро и регулируется светочувствительными ганглионарными клетками сетчатки (ipRGC). Эти ipRGC не зависят от палочек и колбочек и содержат светочувствительный пигмент меланопсин.

[0012] Nosedá et al. (Nosedá, R. et al. A neural mechanism for exacerbation of headache by light. *Nat. Neurosci.* 13, 239-245 (2010)) исследовали слепых людей, страдающих мигренью, и установили корреляцию указанных результатов с моделями крысы, включающими отслеживание проекций ipRGC на области восприятия боли от твердой мозговой оболочки. Из всех слепых пациентов, страдающих мигренью, 6 не воспринимали свет из-за серьезного повреждения зрительного нерва или двусторонней энуклеации. У указанных субъектов наблюдалась аномальная картина сна и слабые реакции зрачков на свет. Мигрень у них не ухудшалась при воздействии света. В отличие от этого, у 14 слепых

субъектов, способных воспринимать свет, несмотря на минимальное восприятие образов, наблюдался нормальный сон и нормальный световой рефлекс зрачков. Несмотря на распространенную дегенерацию палочек и колбочек, у указанных пациентов наблюдалось ухудшение симптомов мигрени при воздействии света во время приступов мигрени, что указывает на важную роль ipRGC, а не палочек и колбочек, для светобоязни.

[0013] Указанные проекции сетчатки на области головного мозга, не формирующие изображение, проецируются на противоположную дорсокаудальную область заднего таламуса, о чем свидетельствует антероградная регистрация на крысах. Входящий сигнал ipRGC в этой области модулирует чувствительные нейроны, реагирующие на боль в твердой мозговой оболочке, которые также проецируются на эту область. Нейроны таламуса, чувствительные как к боли в твердой мозговой оболочке, так и к световому сигналу, широко проецируются на различные области коры, в том числе первичную соматосенсорную кору, первичную и вторичную моторную кору, теменную ассоциативную кору, и на первичную и вторичную зрительную кору. Указанные кортикальные проекции могут помочь объяснить, в дополнение к светобоязни, другие распространенные симптомы мигрени, например, двигательную слабость или нарушение координации, нарушения зрения и плохую концентрацию.

[0014] Светобоязнь также сопровождается другие менее частые, но также ухудшающие трудоспособность состояния, например, кластерную головную боль и другие тройничные вегетативные цефалгии и блефароспазм. Механизмы, лежащие в основе светобоязни, вовлекают систему тройничного нерва. Светобоязнь у слепых пациентов предполагает вклад нервного тракта, не связанного со зрением. Кроме того, тройничные вегетативные цефалгии, группа малораспространенных заболеваний, сопровождающихся первичной головной болью, характеризуются односторонней болью, опосредованной тройничным нервом, часто связанной с ипсилатеральной светобоязнью.

[0015] Стимуляция тройничных сенсорных нейронов приводит к высвобождению нейропептидов (включая вещество P и пептид, связанный с геном кальцитонина), приводящему к расширению кровеносных сосудов и активации тучных клеток, эндотелиальных клеток и тромбоцитов (нейрогенному воспалению), что приводит к мигрени. (Buzzi MG, Dimitriadou V, Theoharides TC, Moskowitz MA. 5-Hydroxytryptamine receptor agonists for the abortive treatment of vascular headaches block mast cell, endothelial and platelet activation within the rat dura mater after trigeminal stimulation. *Brain Res* 1992;583:137-149). Во время острой мигренозной боли содержание CGRP повышено в крови наружной яремной вены (Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol*

1990;28:183-187), а триптаны снижают повышенные уровни CGRP. В моделях на животных мыши, сенсibilизированные по отношению к CGRP, демонстрируют более выраженное поведение, связанное с отвращением к свету, при воздействии экзогенного CGRP. Введение олцегепанта, антагониста рецептора CGRP, предотвращает светобоязнь у указанных мышей. (См. Recober A, Kaiser EA, Kuburas A, Russo AF. Induction of multiple photophobic behaviors in a transgenic mouse sensitized to CGRP. *Neuropharmacology* 2010;58:156-165).

[0016] Тем не менее, хотя предлагалось применение антител против CGRP или рецептора CGRP и их фрагментов для лечения мигрени, насколько известно авторам изобретения, сообщения о полипептидном антагонисте CGRP или, в частности, антителе или фрагменте антитела против CGRP или рецептора CGRP, способном облегчать или предотвращать побочные эффекты CGRP, связанные со светобоязнью, *in vivo*, отсутствуют. Разработка новых полипептидов, действующих как ингибиторы взаимодействия CGRP/рецептор CGRP, например, антител против CGRP или рецептора CGRP, или фрагментов антител против CGRP или рецептора CGRP, была бы полезной для пациентов, которые не реагируют на современные терапевтические средства для лечения мигрени, например, триптаны, или пациентов, не способных принимать или переносить их в связи с их потенциальными сосудосуживающими эффектами.

Сущность изобретения

[0017] Настоящее изобретение относится к открытию, что полипептиды, ингибирующие взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, например, антитела против CGRP или рецептора CGRP и фрагменты антител против CGRP или рецептора CGRP (в том числе Fab-фрагменты), обладающие специфичностью связывания с пептидом, связанным с геном кальцитонина человека (далее "CGRP"), а также фрагменты CGRP и рецептора CGRP, ингибирующие взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, можно применять для профилактики или ингибирования светобоязни, особенно CGRP-ассоциированной светобоязни. Авторы настоящего изобретения, в частности, описывают здесь в качестве примера антитело против CGRP, идентифицированное ниже как Ab3, которое очень эффективно облегчает или предотвращает светобоязнь, особенно эффекты CGRP, связанные со светобоязнью. Другими предпочтительными примерами для применения при предлагаемой терапии являются, в числе прочего, Ab6 и Ab10.

[0018] Соответственно, настоящее изобретение относится к применению полипептидов, ингибирующих взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, например, антител против CGRP или рецептора CGRP и фрагментов антител против CGRP или рецептора CGRP (в том

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

[0019] Настоящее изобретение также относится к способам скрининга полипептидов, ингибирующих взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, например, антител против CGRP или рецептора CGRP и фрагментов антител, связывающих CGRP или рецептор CGRP (в том числе Fab-фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP человека, а также фрагментов CGRP и рецептора CGRP, ингибирующих взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, в специфических животных моделях светобоязни, например, нестин/hRAMP1 модели грызунов, раскрытой ниже, для определения их действия *in vivo*, особенно способности указанных полипептидов ингибировать взаимодействие CGRP/рецептор CGRP *in vivo* и таким образом противодействовать неблагоприятным побочным эффектам CGRP *in vivo*, в том числе светобоязни, и лечить состояния, связанные с CGRP, включая CGRP-ассоциированную светобоязнь, в том числе мигрень и другие расстройства, связанные со светобоязнью, например, кластерную головную боль и другие тройничные вегетативные цефалгии и блефароспазм, депрессию, биполярные расстройства и другие состояния, связанные со светобоязнью, определенные здесь.

[0020] Кроме того, настоящее изобретение специфически включает способ оценки потенциальной эффективности *in vivo* кандидата-полипептида, ингибирующего взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, например, антител против CGRP или рецептора CGRP и фрагментов антител против CGRP или рецептора CGRP (в том числе Fab-фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP, а также фрагментов CGRP и рецептора CGRP, ингибирующих взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, предпочтительно антитела или фрагмента антитела против CGRP или рецептора CGRP, включающий определение способности указанного полипептида, например, антитела, ингибировать поведение, связанное с отвращением к свету, у трансгенного грызуна, проявляющего отвращение к свету при введении CGRP, по сравнению с поведением,

связанным с отвращением к свету, у грызуна при введении CGRP в отсутствие кандидата-полипептида, ингибирующего взаимодействие CGRP/рецептор CGRP.

[0021] Кроме того, настоящее изобретение включает способ оценки потенциальной эффективности *in vivo* кандидата-полипептида, ингибирующего взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, например, антител против CGRP или рецептора CGRP и фрагментов антител против CGRP или рецептора CGRP (в том числе Fab-фрагментов), а также фрагментов CGRP и рецептора CGRP, ингибирующих взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, предпочтительно антитела или фрагмента антитела против CGRP или рецептора CGRP, для лечения неврологического состояния или другого состояния, характеризующегося повышенными уровнями CGRP, что приводит к светобоязни.

[0022] Кроме того, настоящее изобретение специфически включает способ оценки потенциальной эффективности *in vivo* кандидата-полипептида, ингибирующего взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, например, антител против CGRP или рецептора CGRP и фрагментов антител против CGRP или рецептора CGRP, а также фрагментов или вариантов разновидностей CGRP и рецепторов CGRP, ингибирующих взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, предпочтительно антител или фрагментов антител против CGRP или рецептора CGRP, для лечения или профилактики светобоязни при мигрени или хронической мигрени, менструальной, менопаузальной или другой гормон-ассоциированной мигрени, кластерной головной боли или болевого расстройства, связанного с головной болью.

[0023] Кроме того, настоящее изобретение включает способ определения подходящей терапевтической дозы или схемы приема кандидата-полипептида, ингибирующего взаимодействие CGRP/рецептор CGRP, например, антитела или фрагмента антитела против CGRP или рецептора CGRP, для человека на основании эффектов указанного полипептида, например, антитела или фрагмента антитела, в поведенческой животной модели отвращения к свету у Nestin/hRAMP1 грызунов, подробно описанной ниже.

[0024] Кроме того, настоящее изобретение относится к способам оценки подходящей терапевтической дозы или режима приема кандидата-полипептида, например, антитела или фрагмента антитела против CGRP или рецептора CGRP в организме человека на основе результатов, полученных на модели CGRP у грызунов (модель животных нестин/hRAMP1).

[0025] В предпочтительных вариантах воплощения настоящее изобретение направлено на терапевтическое применение специфических антител и их фрагментов, обладающих специфичностью связывания с CGRP, в частности, антител, обладающих желательной эпитопной специфичностью, высоким сродством или авидностью и/или

функциональными свойствами. В предпочтительных вариантах воплощения настоящее изобретение относится к анализам и применению антител, описанных здесь, включающих последовательности V_H , V_L и CDR-полипептидов, описанные здесь, и полинуклеотиды, кодирующие их. Предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения направлен на химерные или гуманизированные антитела и их фрагменты (в том числе Fab-фрагменты), способные связываться с CGRP или рецептором CGRP и/или ингибировать биологическую активность, опосредованную связыванием CGRP с рецептором CGRP ("CGRP-R").

[0026] В другом предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения указанные анализы и терапевтические средства используют полноразмерные антитела и их Fab-фрагменты, ингибирующие продукцию цАМФ, зависимую от CGRP-альфа-, CGRP-бета и CGRP крысы. В дополнительном предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения рассматриваются полноразмерные антитела и их Fab-фрагменты, снижающие расширение сосудов и ингибирующие или предотвращающие светобоязнь у реципиента после введения.

[0010] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения химерные или гуманизированные антитела и их фрагменты (в том числе Fab-фрагменты), способные связываться с CGRP или рецептором CGRP, можно применять в рамках способов, направленных на снижение, лечение или профилактику светобоязни, связанной с одним или более из следующих состояний: мигрени (с аурой или без нее), рака или опухолей, ангиогенеза, связанного с раковым или опухолевым ростом, ангиогенеза, связанного с выживанием рака или опухоли, потери массы тела, боли, гемиплегической мигрени, кластерных головных болей, менструальной мигрени, мигренозной невралгии, хронических головных болей, головных болей напряжения, общей головной боли, "приливов", хронической пароксизмальной гемикрании, вторичных головных болей вследствие основной структурной проблемы в области головы или шеи, черепной невралгии, синусных головных болей (например, связанных с синуситом), мигрени без головной боли, мигрени с тошнотой и рвотой и головных болей или мигрени, вызванных аллергией.

[0011] Распространенные причины светобоязни включают головные боли при мигрени, катаракту или тяжелые офтальмологические заболевания, например, увеит или истирание роговицы. Расширенный список расстройств, связанных со светобоязнью, включает офтальмологические причины, например, ахроматопию, аниридию, антихолинэргические препараты, способные вызывать светобоязнь, парализуя сфинктер радужной оболочки, афакию (отсутствие хрусталика глаза), буфтальм (аномально узкий угол между роговицей

и радужной оболочкой), катаракту, колбочковую дегенерацию, врожденные аномалии глаза, вирусный конъюнктивит (острый эпидемический конъюнктивит), истирание роговицы, дистрофию роговицы, язву роговицы, расстройство эпителия роговицы, например, вызванное инородным телом роговицы или кератитом, эктопию хрусталика, эндофтальмит, травму глаз, вызванную заболеванием, повреждением или инфекцией, например, халазионом, эписклеритом, глаукомой, кератоконусом или гипоплазией зрительного нерва, гидрофтальм или врожденную глаукому, ирит, неврит зрительного нерва, синдром диспергирования пигмента, расширение зрачков (естественное или химически индуцированное), отслоение сетчатки, рубцы роговицы или склеры и увеит.

[0012] Кроме того, причины светобоязни могут быть связаны с нервной или мочевыделительной системой, включая: расстройства аутистического спектра, порок Киари, дислексию, энцефалит, включая миалгический энцефаломиелит или синдром хронической усталости, менингит, субарахноидальное кровоизлияние, опухоль задней черепной ямки, а также другие причины, например, анкилозирующий спондилит, альбинизм, арибофлавиноз, бензодиазепины (длительное применение или отмену бензодиазепинов), химиотерапию, лихорадку чикунгунья, цистиноз, синдром Элерса-Данло, похмелье, грипп, инфекционный мононуклеоз, дефицит магния, отравление ртутью, мигрень, бешенство и тирозинемия II типа, также известную как "синдром Рихнера-Ханхарта". Кроме того, известно, что светобоязнь повышена при депрессии, биполярном расстройстве и агорафобии.

[0013] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения указанные антитела и их гуманизированные варианты для лечения или профилактики светобоязни можно получить из иммунных клеток (В-лимфоцитов) кролика и отобрать на основе их гомологии (идентичности последовательности) с последовательностями эмбрионального типа человека. Для указанных антител может требоваться минимальная (или может вообще не требоваться) модификация последовательности, что облегчает сохранение функциональных свойств после гуманизации. Еще один вариант воплощения настоящего изобретения направлен на фрагменты антител против CGRP или рецептора CGRP, включая V_H , V_L и CDR-полипептиды, например, полученные из иммунных клеток кролика, и полинуклеотиды, кодирующие их, а также применение указанных фрагментов антител и полинуклеотидов, кодирующих их, для создания новых антител и полипептидных композиций, способных связываться с CGRP и/или комплексами CGRP/CGRP-R.

[0014] Настоящее изобретение также рассматривает конъюгаты антител против CGRP или рецептора CGRP и их связывающих фрагментов для лечения или профилактики

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

[0015] Варианты воплощения настоящего изобретения относятся к применению полипептидных ингибиторов CGRP/рецептора CGRP, например, антител или фрагментов антител против CGRP или CGRP-R, и фрагментов CGRP или CGRP-R, предпочтительно антител против CGRP или CGRP-R и их связывающих фрагментов для диагностики, оценки и лечения заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP или его аномальной экспрессией, особенно для лечения или профилактики светобоязни. Настоящее изобретение также рассматривает применение полипептидных ингибиторов CGRP/рецептора CGRP, например, антител против CGRP или рецептора CGRP или фрагментов антител против CGRP или рецептора CGRP, в особенности фрагментов антител против CGRP для диагностики, оценки и лечения заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP или его аномальной экспрессией, особенно для лечения или профилактики светобоязни. Другие варианты воплощения настоящего изобретения относятся к продукции антител против CGRP или рецептора CGRP или их фрагментов в рекомбинантных клетках-хозяевах, например, таких клетках млекопитающих как клетки CHO, NSO или НЕК 293, или клетках дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей.

Краткое описание чертежей

[0016] На Фигуре 1 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab1.

[0017] На Фигуре 2 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab2.

[0018] На Фигуре 3 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab3.

[0019] На Фигуре 4 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab4.

[0020] На Фигуре 5 представлены полинуклеотидные и полипептидные

последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab5.

[0021] На Фигуре 6 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab6.

[0022] На Фигуре 7 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab7.

[0023] На Фигуре 8 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab8.

[0024] На Фигуре 9 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab9.

[0025] На Фигуре 10 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab10.

[0026] На Фигуре 11 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab11.

[0027] На Фигуре 12 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab12.

[0028] На Фигуре 13 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab13.

[0029] На Фигуре 14 представлены полинуклеотидные и полипептидные последовательности, соответствующие полноразмерному антителу Ab14.

[0030] 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.

[0031] 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.

[0032] 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.

[0033] 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.

[0034] 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.

[0035] На Фигуре 20 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой

продукции цАМФ антителом Ab3, полученным в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0036] На Фигуре 21 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой продукции цАМФ антителами Ab5 и Ab6, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0037] 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.

[0038] 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.

[0039] На Фигуре 24 продемонстрировано ингибирование CGRP-альфа-зависимой продукции цАМФ антителом Ab14, полученным в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0040] 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.

[0041] 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.

[0042] На Фигуре 27 продемонстрировано ингибирование CGRP-бета-зависимой продукции цАМФ антителами Ab7 и Ab8, полученными в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0043] 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.

[0044] 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.

[0045] 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.

[0046] 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.

[0047] 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.

[0048] На Фигуре 33 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителом Ab9, полученным в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0049] На Фигуре 34 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителом Ab10, полученным в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0050] 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.

[0051] На Фигуре 36 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителом Ab13, полученным в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0052] На Фигуре 37 продемонстрировано ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP крысы, антителом Ab14, полученным в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1 ниже.

[0053] 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.

[0054] 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.

[0055] 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.

[0056] На Фигуре 41 показано действие ICV инъекции CGRP у трансгенных мышей hRAMP1 и контрольных однопометных мышей и, в частности, представлены данные, показывающие, что введение CGRP снижает время поведения на свету трансгенных мышей hRAMP1 по сравнению с контрольными однопометными особями. Мышам вводили hCGRP (2 мкг) с помощью ICV-инъекции под наркозом и оставляли для восстановления на 30 минут. Мышей помещали по отдельности в двухкамерную

освещенную/темную коробку и регистрировали передвижение в течение 30 минут. Шесть мышей тестировали одновременно в шести разных коробках. Каждая группа состояла из семи-девяти мышей.

[0057] Фигура 42 содержит данные сравнения действия системной (в/б) инъекции антитела против CGRP (Ab3) на CGRP-опосредованное отвращение к свету. Ab3 в среде-носителе, среде-носитель и контрольное антитело в среде-носителе вводили в дозе 30 мг/кг мышам нестин/RAMP1, а затем мышам вводили CGRP путем ICV-инъекции. Данные в левой части графика представляют общее время на свету (в секундах) в течение первых 10 минут после введения CGRP, а данные на правой стороне графика представляют общее время на свету (в секундах), измеренное в течение первых 20 минут после инъекции CGRP. Данные показывают, что мыши, получавшие антитело против CGRP Ab3 (раскрытое ниже), характеризовались статистически значимым увеличением времени, проводимого на свету, по сравнению с мышами, получавшими контроли.

Подробное описание предпочтительных вариантов воплощения

Определения

[0058] Следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными способами, протоколами, линиями клеток, видами или родами животных и реагентами, описанными здесь, поскольку все это может изменяться. Кроме того, следует понимать, что терминология, которая используется здесь, предназначена лишь для целей описания конкретных вариантов воплощения и не должна рассматриваться в качестве ограничивающей рамки настоящего изобретения, которые должны ограничиваться только прилагаемой формулой изобретения. Как используется здесь, формы единственного числа включают определяемые объекты во множественном числе, если контекст не диктует иное в явной форме. Так, например, ссылка на "клетку" включает множество таких клеток, а ссылка на "указанный белок" включает ссылку на один или более белков и их эквивалентов, известных специалистам в данной области техники, и так далее. Если иное не указано явным образом, все технические и научные термины, использованные в настоящем документе, имеют значения, совпадающие с общепринятыми среди специалистов в области техники, к которой относится настоящее изобретение.

[0059] *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):

CGRP-альфа: ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF-NH₂ (SEQ ID NO:

281), где N-концевой фенилаланин амидирован;

CGRP-бета: ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKSNTFVPTNVGSKAF-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 (крысы или мыши), а также CGRP других млекопитающих.

[0060] "Рецептор CGRP" или "CGRP-R" относится к рецептору - партнеру CGRP по связыванию, предпочтительно рецептору CGRP человека, однако охватывает другие разновидности CGRP-R, особенно CGRP-R грызунов (крысы или мыши), примата, не являющегося человеком, и других млекопитающих.

[0061] "Ингибитор CGRP/рецептора CGRP" здесь относится к любому полипептиду, ингибирующему взаимодействие CGRP и рецепторов CGRP, например, антителам или фрагментам антител против CGRP или CGRP-R и фрагментам полипептидов CGRP или CGRP-R. Предпочтительно, указанные ингибиторы ингибируют указанное взаимодействие *in vitro* и *in vivo* и ингибируют нежелательные побочные эффекты CGRP, включая отвращение к свету или светобоязнь.

[0062] "Светобоязнь" здесь относится к симптому патологической непереносимости зрительного восприятия света, иногда дополнительно определяемому по аномальному или иррациональному страху перед светом, или по наличию реальной физической светочувствительности глаз. В настоящем изобретении светобоязнь включает, в частности, отвращение к свету, связанное с мигренью, кластерной головной болью и другими неврологическими причинами поведения, связанного с отвращением к свету, которые могут вызвать мигрень или кластерную головную боль. Светобоязнь может развиваться у пациентов в результате нескольких различных заболеваний, связанных с глазами или нервной системой. Светобоязнь может быть вызвана повышенной реакцией на свет, начиная с любого этапа зрительного тракта, например: (i) слишком большим количеством света, попадающего в глаз, (ii) слишком большим количеством света, которое может попасть в глаз при его повреждении, например, истирании роговицы и повреждении сетчатки, или при невозможности нормального сужения зрачка(ов) (вследствие повреждения глазодвигательного нерва), (iii) избыточным раздражением фоторецепторов сетчатки, (iv) избыточными электрическими импульсами зрительного нерва, и (v) избыточной реакцией в центральной нервной системе.

[0063] Распространенные причины светобоязни включают головные боли при мигрени, катаракту или тяжелые офтальмологические заболевания, например, увеит или истирание

роговицы. Расширенный список расстройств, связанных со светобоязнью, включает офтальмологические причины, например, ахроматопсию, аниридию, антихолинэргические препараты, способные вызывать светобоязнь, парализуя сфинктер радужной оболочки, афакию (отсутствие хрусталика глаза), буфтальм (аномально узкий угол между роговицей и радужной оболочкой), катаракту, колбочковую дегенерацию, врожденные аномалии глаза, вирусный конъюнктивит (острый эпидемический конъюнктивит), истирание роговицы, дистрофию роговицы, язву роговицы, расстройство эпителия роговицы, например, вызванное инородным телом роговицы или кератитом, эктопию хрусталика, эндофтальмит, травму глаз, вызванную заболеванием, повреждением или инфекцией, например, халазионом, эписклеритом, глаукомой, кератоконусом или гипоплазией зрительного нерва, гидрофтальм или врожденную глаукому, ирит, неврит зрительного нерва, синдром диспергирования пигмента, расширение зрачков (естественное или химически индуцированное), отслоение сетчатки, рубцы роговицы или склеры и увеит.

[0064] Кроме того, причины светобоязни могут быть связаны с нервной или мочевыделительной системой, включая: расстройства аутистического спектра, порок Киари, дислексию, энцефалит, включая миалгический энцефаломиелит или синдром хронической усталости, менингит, субарахноидальное кровоизлияние, опухоль задней черепной ямки, а также другие причины, например, анкилозирующий спондилит, альбинизм, арибофлавиноз, бензодиазепины (длительное применение или отмену бензодиазепинов), химиотерапию, лихорадку чикунгунья, цистиноз, синдром Элерса-Данло, похмелье, грипп, инфекционный мононуклеоз, дефицит магния, отравление ртутью, мигрень, бешенство и тирозинемия II типа, также известную как "синдром Рихнера-Ханхарта". Кроме того, известно, что светобоязнь повышена при депрессии, биполярном расстройстве и агорафобии.

[0065] "Мигрень" (от греческих слов *hemi*, что означает "половина", и *kranion*, что означает "череп") является изнурительным состоянием, которое характеризуется головной болью от умеренной до тяжелой и тошнотой. Она приблизительно в три раза чаще встречается у женщин, чем у мужчин. Типичная головная боль при мигрени является односторонней (поражающей одну половину головы) и пульсирующей по своей природе и продолжается от 4 до 72 часов; симптомы включают тошноту, рвоту, светобоязнь (повышенную чувствительность к свету), фонофобию (повышенную чувствительность к звуку); симптомы, как правило, усугубляются повседневной деятельностью. Примерно одна треть людей, страдающих мигренозной головной болью, воспринимают ауру - необычные визуальные, обонятельные или другие сенсорные ощущения, являющиеся признаком скорого приступа мигрени. Первоначальное лечение головных болей при

мигрени обычно осуществляют с помощью анальгетиков против головной боли, противорвотного средства против тошноты и избегания провоцирующих факторов. Исследования близнецов показывают 60-65-процентную генетическую обусловленность склонности к развитию мигренозной головной боли. Кроме того, колебания уровней гормонов указывают на их отношение к мигрени: 75 процентов взрослых пациентов - женщины, хотя мигрень поражает приблизительно равное число мальчиков и девочек до полового созревания; известно, что склонность к мигренозной головной боли исчезает во время беременности, хотя у некоторых женщин мигрени могут участиться во время беременности.

[0066] "Эффективное лечение или профилактика светобоязни" здесь относится к ингибированию поведения, связанного с отвращением к свету, или светобоязни, или ингибированию наступления поведенческой реакции, связанной с отвращением к свету, или светобоязни у субъекта, нуждающегося в этом, например, у субъекта с приступом мигрени или кластерной головной боли или у субъекта, склонного к мигрени или кластерной головной боли, или одному из других расстройств, связанных со светобоязнью, определенных здесь, после введения эффективного количества полипептида-ингибитора CGRP/рецептора CGRP согласно изобретению, например, антитела или фрагмента антитела против CGRP согласно изобретению. Лечение можно осуществлять в виде монотерапии или в сочетании с другим активным агентом, например, топираматом или дигидроэрготамином.

[0067] *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.

[0068] 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*.

[0069] 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*.

[0070] *Гаплоидная дрожжевая клетка*: Клетка, содержащая одну копию каждого гена с его нормальной геномной (хромосомной) комплементарной цепью.

[0071] *Полиплоидная дрожжевая клетка*: Клетка, содержащая более одной копии каждого гена с его нормальной геномной (хромосомной) комплементарной цепью.

[0072] *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.

[0073] *Тетраплоидная дрожжевая клетка*: Клетка, содержащая четыре копии (аллеля) практически каждого гена с его нормальной геномной комплементарной цепью, обычно получаемая путем слияния (спаривания) двух гаплоидных клеток. Тетраплоиды могут нести две, три, четыре или более различных экспрессионных кассет. Такие тетраплоиды можно получить у *S.cerevisiae* путем селективного спаривания гомозиготных гетероталлических *a/a* и 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.

[00100] *Спаривание дрожжей*: Процесс, при котором две гаплоидные дрожжевые клетки естественным образом сливаются, образуя одну диплоидную дрожжевую клетку.

[00101] *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.

[00102] *Селектируемый маркер*: Селектируемый маркер является геном или фрагментом гена, придающим клетке, принимающей указанный ген, например, за счет трансформации, фенотип роста (физическую характеристику роста). Селективный маркер позволяет указанной клетке выжить и развиваться в селективной ростовой среде в условиях, когда клетки, не получившие указанного селективного маркерного гена, не могут расти. Селективные маркерные гены в целом делятся на несколько типов, в том числе положительные селективные маркерные гены, например, ген, придающий клетке устойчивость к антибиотику или другому лекарственному средству, температуре при скрещивании двух мутантов, чувствительных к температуре ("ts"-мутантов) или трансформации ts-мутанта; отрицательные селективные маркерные гены, например, ген биосинтеза, который придает клетке способность к росту в среде без определенного питательного вещества, необходимого для всех клеток, которые не содержат указанного гена биосинтеза, или мутантный ген биосинтеза, придающий клетке неспособность получать ростовое преимущество перед клетками, не имеющими гена дикого типа; и т.п. Подходящие маркеры включают, но не ограничиваются следующими: ZEO; G418; LYS3; MET1; MET3a; ADE1; ADE3; URA3; и т.п.

[00103] *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 (a) придают устойчивость к антибиотикам или другим токсинам, (b) восполняют ауксотрофную недостаточность или (c) 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.

[00104] 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.

[00105] Интересующая исследователя последовательность, кодирующая полипептид, функционально связана с регуляторными последовательностями транскрипции и трансляции, обеспечивающими экспрессию полипептида в дрожжевых клетках. Указанные компоненты вектора могут включать одно или более из следующего: энхансерный элемент, промотор и последовательность терминатора транскрипции, но не ограничиваются ими. Кроме того, можно включать последовательности для секреции полипептида, например, сигнальную последовательность и т.п. Дрожжевой сайт инициации репликации является необязательным, поскольку векторы экспрессии часто интегрируются в геном дрожжей. В одном варианте воплощения настоящего изобретения представляющий интерес полипептид функционально связан или объединен с последовательностями, обеспечивающими оптимизированную секрецию полипептида из диплоидных клеток дрожжей.

[00106] 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 обязательно 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 (Gateway^R Technology; Invitrogen, Карлсбад, штат Калифорния, США). Если такие сайты отсутствуют, в соответствии с общепринятой практикой используют синтетические олигонуклеотидные адаптеры или линкеры.

[00107] 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.

[00108] 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.

[00109] 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.

[00110] Другие промоторы дрожжей включают ADH1, промотор алкогольдегидрогеназы II, GAL4, PHO3, PHO5, Pyc 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.

[00111] Интересующие исследователя полипептиды можно рекомбинантно получать не только напрямую, но и в качестве гибридного полипептида с гетерологичным полипептидом, например, сигнальной последовательностью или другим полипептидом, содержащим специфический сайт расщепления на N-конце зрелого белка или полипептида. В общем случае сигнальная последовательность может быть компонентом вектора или частью кодирующей последовательности полипептида, вставленной в вектор. Предпочтительно выбираемой гетерологичной сигнальной последовательностью является последовательность, распознаваемая и подвергаемая процессингу посредством одного из стандартных путей, доступных в клетке-хозяине. Доказала свою эффективность сигнальная последовательность пре-про-фактора альфа *S. cerevisiae* при секреции различных рекомбинантных белков из *P. pastoris*. Другие дрожжевые сигнальные последовательности включают сигнальную последовательность альфа-фактора

спаривания, сигнальную последовательность инвертазы и сигнальные последовательности, полученные из других 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).

[00112] 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.

[00113] 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.

[00114] 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.

[00115] 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.

[00116] *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.

[00117] *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.

[00118] 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.

[00119] Хозяина для экспрессии можно дополнительно модифицировать путем внедрения последовательностей, кодирующих один или более ферментов, улучшающих фолдинг и образование дисульфидных связей, т.е. фолдаз, шаперонинов и т.д. Такие последовательности можно конститутивно или индуцибельно экспрессировать в дрожжевой клетке-хозяине с помощью векторов, маркеров и т.д., как известно в данной области техники. В предпочтительном случае последовательности, включая транскрипционные регуляторные элементы, достаточные для желательной картины экспрессии, стабильно интегрированы в геном дрожжей с помощью сайт-специфических способов.

[00120] Например, PDI эукариот является не только эффективным катализатором окисления цистеина белка и изомеризации дисульфидных связей, но также проявляет шаперонную активность. Совместная экспрессия PDI может облегчить продукцию активных белков, содержащих множественные дисульфидные связи. Кроме того, представляет интерес экспрессия VIP (белок, связывающий тяжелые цепи иммуноглобулинов); циклофилина; и т.п. В одном варианте воплощения настоящего изобретения каждый из гаплоидных родительских штаммов экспрессирует собственный фермент фолдинга, например, один штамм может экспрессировать VIP, а другой штамм может экспрессировать PDI или их комбинации.

[00121] Термины "*желательный белок*" или "*желательное антитело*" взаимозаменяемы и в целом относятся к исходному антителу, специфичному по отношению к мишени, т.е. CGRP или рецептору CGRP, или химерному или гуманизированному антителу, или его связывающему фрагменту, получаемому из него, как описано здесь. Термин "антитело" предназначен для включения любой молекулярной структуры определенной формы, содержащей полипептидную цепь, которая соответствует эпитопу и распознает его, причем одно или более нековалентных связывающих взаимодействий стабилизируют комплекс между указанной молекулярной структурой и эпитопом. Молекула-прототип антитела является иммуноглобулином, и все типы иммуноглобулинов, IgG, IgM, IgA, IgE, IgD и т.д., из всех источников, например, человека, грызунов, кролика, коровы, овцы, свиньи, собаки, других млекопитающих, кур, других птиц и т.д., считаются "антителами". Предпочтительным источником для

продукции антител, пригодным в качестве исходного материала согласно изобретению, являются кролики. Описаны многочисленные кодирующие последовательности антител; другие последовательности можно найти с помощью способов, хорошо известных в данной области техники. Их примеры включают химерные антитела, антитела человека и антитела других млекопитающих, гуманизированные антитела, одноцепочечные антитела (например, scFv), камелизированные антитела, нанотела, IgNAR (одноцепочечные антитела, полученные от акул), иммунофармацевтические средства на основе модульных белков малого размера (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.

[00122] Например, антитела или антиген-связывающие фрагменты можно продуцировать с помощью генной инженерии. При этой методике, как и при других способах, антитело-продуцирующие клетки сенсibiliзируют желательным антигеном или иммуногеном. Матричную РНК, выделенную из антитело-продуцирующих клеток, используют в качестве матрицы для получения кДНК с помощью ПЦР-амплификации. Библиотеку векторов, каждый из которых содержит один ген тяжелой цепи и один ген легкой цепи, сохраняющие первоначальную антигенную специфичность, получают путем инсерции соответствующих участков амплифицированной кДНК иммуноглобулина в экспрессирующие векторы. Комбинаторную библиотеку конструируют путем объединения библиотеки генов тяжелых цепей с библиотекой генов легких цепей. Это приводит к получению библиотеки клонов, которые совместно экспрессируют тяжелую и легкую цепи (аналогичные Fab-фрагменту или антиген-связывающему фрагменту молекулы антитела). Векторы, которые несут эти гены, совместно переносят в клетку-хозяина путем трансфекции. При индукции синтеза генов антитела в трансфицированной клетке-хозяине белки тяжелых и легких цепей подвергаются самосборке, образуя активные антитела, которые можно обнаружить путем скрининга с антигеном или иммуногеном.

[00123] Последовательности, кодирующие интересующие исследователя антитела,

включают нативные последовательности, а также нуклеиновые кислоты, последовательность которых в силу вырожденности генетического кода не идентична последовательности раскрытых нуклеиновых кислот, и их варианты. Варианты полипептидов могут включать аминокислотные (АК) замены, добавления или делеции. Аминокислотные замены могут быть консервативными аминокислотными заменами или заменами для устранения несущественных аминокислот, например, для модификации сайта гликозилирования или минимизации неправильного фолдинга путем замены или делеции одного или более остатков цистеина, ненужных для функционирования. Можно сконструировать варианты, сохраняя или повышая биологическую активность определенной области белка (например, функционального домена, каталитических аминокислотных остатков и т.д.). Варианты также включают фрагменты полипептидов, раскрытые здесь, особенно биологически активные фрагменты и/или фрагменты, соответствующие функциональным доменам. Известны методики мутагенеза клонированных генов *in vitro*. Настоящее изобретение также включает полипептиды, модифицированные с помощью обычных молекулярно-биологических методик с целью улучшения их устойчивости к протеолитической деградации или оптимизации растворимости или для их лучшего соответствия требованиям, предъявляемым к терапевтическим агентам.

[00124] Химерные антитела можно получить рекомбинантными способами путем объединения переменных областей легких и тяжелых цепей (V_L и V_H), 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, предполагается, что константные области человека в составе химерных антител по изобретению можно выбирать из константных областей IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

[00125] Гуманизированные антитела сконструированы таким образом, что их иммуноглобулиновые домены более подобны доменам человека, и включают только определяющие комплементарность области антитела животного происхождения. Это достигается путем тщательного изучения последовательности гипервариабельных петель 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.

[00126] 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, диатела, которые содержат два Fv с различной специфичностью. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты иммуноглобулинов включают SMIP (низкомолекулярные иммунофармацевтические средства), камелизированные антитела, нанотела и IgNAR.

[00127] 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.

[00128] 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.

[00129] "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.

[00130] "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.

[00131] Векторы используются для введения чужеродного вещества, например, ДНК, РНК или белка, в организм или клетку-хозяина. Типичные векторы включают рекомбинантные вирусы (для полинуклеотидов) и липосомы (для полипептидов). "ДНК-вектор" является репликоном, например, плазмидой, фагом или космидой, к которому можно присоединить другой полинуклеотидный сегмент, вызывая репликацию присоединенного сегмента. "Экспрессирующий вектор" является ДНК-вектором, содержащим регуляторные последовательности, управляющие синтезом полипептида соответствующей клеткой-хозяином. Это обычно подразумевает промотор, связывающий РНК-полимеразу и инициирующий транскрипцию мРНК, а также сайты связывания рибосом и сигналы инициации для управления трансляцией мРНК в полипептид(ы). Внедрение полинуклеотидной последовательности в экспрессирующий вектор в надлежащем сайте и в правильной рамке считывания с последующей трансформацией

соответствующей клетки-хозяина с помощью указанного вектора дает возможность продукции полипептида, кодируемого указанной полинуклеотидной последовательностью.

[00132] "Аmplификация" полинуклеотидных последовательностей является продукцией множественных копий определенной нуклеотидной последовательности *in vitro*. Амплифицированная последовательность обычно представлена в форме ДНК. Различные методики проведения такой амплификации описаны в обзорной статье Van Brunt (1990, *Bio/Technol.*, 8(4):291-294). Полимеразная цепная реакция или ПЦР является прототипом амплификации нуклеиновых кислот, и использование ПЦР здесь следует рассматривать в качестве примера других подходящих методик амплификации.

[00133] 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 F_{ab}-область; стеблевой фрагмент "Y"-конфигурации обозначают как F_c-область. Аминокислотная последовательность ориентирована от N-конца в верхней части "Y"-конфигурации до C-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.

[00134] 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.

[00135] Выражение "вариабельная область" или "VR" относится к доменам в пределах каждой пары легкой и тяжелой цепей антитела, которые непосредственно вовлечены в связывание антитела с антигеном. Каждая тяжелая цепь несет на одном конце вариабельный домен (V_H), за которым следует ряд константных доменов. Каждая легкая цепь несет на одном конце вариабельный домен (V_L), а на другом конце - константный домен; константный домен легкой цепи выровнен с первым константным доменом тяжелой цепи, а вариабельный домен легкой цепи выровнен с вариабельным доменом тяжелой цепи.

[00136] Выражения "область, определяющая комплементарность", "гипервариабельная область" или "CDR" относятся к одной или более гипервариабельных или определяющих комплементарность областей (CDR), присутствующих в вариабельных областях легких или тяжелых цепей антитела (см. Kabat, E. A. et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, National Institutes of Health, Bethesda, Md., (1987)). Указанные выражения включают гипервариабельные области, соответствующие определению Kabat et al. ("Sequences of Proteins of Immunological Interest," Kabat E., et al., US Dept, of Health and Human Services, 1983) или гипервариабельные петли трехмерных структур антител (Chothia and Lesk, *J Mol. Biol.* 196 901-917 (1987)). CDR каждой цепи удерживаются в непосредственной близости друг от друга посредством каркасных областей и вместе с CDR другой цепи вносят вклад в образование антигенсвязывающего сайта. В пределах CDR присутствуют избранные аминокислоты, описанные как области, определяющие селективность (SDR), которые представляют собой критические контактные остатки, используемые CDR при взаимодействии антитело-антиген (Kashmiri, S., *Methods*, 36:25-34 (2005)).

[00137] 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**

[00138] Настоящее изобретение в целом предусматривает ингибирование или профилактику светобоязни у субъекта, нуждающегося в этом, например, страдающего мигренью или другим расстройством, связанным со светобоязнью, путем введения эффективного количества полипептида-ингибитора CGRP/рецептора CGRP, например, антитела против CGRP или рецептора CGRP или его фрагмента, или фрагмента CGRP или рецептора CGRP, способного эффективно лечить или предотвращать светобоязнь. Это можно определить, например, с использованием соответствующих моделей *in vivo*, например, модели трансгенных мышей, описанной в Примере 8.

[00139] В одном типичном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела, происходящие от Ab1, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV
 SSRFKGSGSGTQFTLTISDLECADAAATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 1).

[00140] Настоящее изобретение также включает химерные антитела, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV
 SSRFKGSGSGTQFTLTISDLECADAAATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAP
 SVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYQKQWVQVVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
 TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGFSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 2).

[00141] Настоящее изобретение также включает химерные антитела, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGINDNTYYA
 SWAKGRFTISRASSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSS (SEQ ID NO: 3).

[00142] Настоящее изобретение также включает химерные антитела, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGINDNTYYA
 SWAKGRFTISRASSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSSASTKGPSVFP

LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 4).

[00143] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 5; SEQ ID NO: 6; и SEQ ID NO: 7, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности 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, 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, 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.

[00144] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 4.

[00145] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 5; SEQ ID NO: 6; и SEQ ID NO: 7, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 1 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 2.

[00146] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 8; SEQ ID NO: 9; и SEQ ID NO: 10, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 4.

[00147] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: 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.

[00148] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерное антитело против CGRP представляет собой Ab1, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 4, и обладающее, по меньшей мере, одной из биологических активностей, изложенных здесь.

[00149] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab1, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 1 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 1 и/или SEQ ID NO: 3 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

[00150] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab1 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab1, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например,

клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab2

[00151] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную

ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 11).

[00152] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность,

представленную

ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQEKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS
LSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12).

[00153] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNT
YYASWAKGRFTISRDNKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 13).

[00154] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность,

представленную

ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNT
YYASWAKGRFTISRDNKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS

LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 14).

[00155] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 16; и SEQ ID NO: 17, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 12, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 18; SEQ ID NO: 19; и SEQ ID NO: 20, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 14, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00156] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для потенциального лечения или профилактики светобоязни. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 11 или SEQ ID NO: 12. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14.

[00157] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 16; и SEQ ID NO: 17, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности

вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 12.

[00158] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 18; SEQ ID NO: 19; и SEQ ID NO: 20, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 14.

[00159] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 16; и SEQ ID NO: 17) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 18; SEQ ID NO: 19; и SEQ ID NO: 20) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13.

[00160] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab2, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 12 и SEQ ID NO: 14, и обладающее, по меньшей мере, одной из биологических активностей, изложенных здесь.

[00161] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab2, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 11 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 13. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 11 и/или SEQ ID NO: 13 в указанном Fab, при условии

сохранения специфичности связывания с CGRP.

[00162] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab2 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab2, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab3

[00163] В предпочтительном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже. Как раскрыто в Примере 8, продемонстрировано, что в поведенческой модели отвращения к свету у трансгенной мыши, указанное антитело эффективно ингибировало CGRP-ассоциированную светобоязнь:

[00164] VLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYS
TSTLASGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIK
R (SEQ ID NO: 21).

[00165] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 22).

[00166] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGIVIGINDNT
YYASWAKGRFTISRDNKTTVYLMNSLR AEDTAVYFCARGDIWGQGTLLTVSS (SEQ

ID NO: 23).

[00167] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNT
 YYASWAKGRFTISRDNKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSSASTK
 GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
 LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYAST
 YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEM
 TKNQVSLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
 QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 24).

[00168] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 25; SEQ ID NO: 26; и SEQ ID NO: 27, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности 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 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.

[00169] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 21 или SEQ ID NO: 22. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению

включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 23 или SEQ ID NO: 24.

[00170] 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.

[00171] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 29; и SEQ ID NO: 30, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 24.

[00172] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 21; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 25; SEQ ID NO: 26; и SEQ ID NO: 27) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 21; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 29; и SEQ ID NO: 30) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23.

[00173] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерное антитело против CGRP для лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab3, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 24, и обладающее, по меньшей мере, одной из биологических активностей, изложенных здесь.

[00174] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител включают или, в качестве альтернативы,

состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab3, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 21 и последовательность вариабельной 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.

[00175] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab3 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab3, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab4

[00176] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGQPPKQLIYDASTLASGV PSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCNDAAAYYCLGSYDCTNGDCVFVGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 31).

[00177] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGQPPKQLIYDASTLASGV PSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCNDAAAYYCLGSYDCTNGDCVFVGGGTEVVVKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DST YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGFSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 32).

[00178] Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой

цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCSVSGIDLSGYMNVWRQAPGKGLEWIGVINGATYYA
 SWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWPGTLVTVSS (SEQ ID NO:
 33).

[00179] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCSVSGIDLSGYMNVWRQAPGKGLEWIGVINGATYYA
 SWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWPGTLVTVSSASTKGPSVFP
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
 VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP
 KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS
 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
 VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
 VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 34).

[00180] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 35; SEQ ID NO: 36; и SEQ ID NO: 37, соответствующие областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 32, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 38; SEQ ID NO: 39; и SEQ ID NO: 40, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 33 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 34, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00181] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для потенциального лечения или профилактики светобоязни. В одном варианте воплощения настоящего изобретения

фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 31 или SEQ ID NO: 32. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 33 или SEQ ID NO: 34.

[00182] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 35; SEQ ID NO: 36; и SEQ ID NO: 37, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 32.

[00183] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 38; SEQ ID NO: 39; и SEQ ID NO: 40, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 33 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 34.

[00184] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 33; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 35; SEQ ID NO: 36; и SEQ ID NO: 37) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 38; SEQ ID NO: 39; и SEQ ID NO: 40) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 33.

[00185] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab4, включающее или, в качестве

альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 32 и SEQ ID NO: 34, и обладающее, по меньшей мере, одной из биологических активностей, изложенных здесь.

[00186] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab4, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 33. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 31 и/или SEQ ID NO: 33 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

[00187] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab4 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab4, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab5

[00188] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 41).

[00189] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGV

PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
SLSSTLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 42).

[00190] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYMNVWRQAPGKGLEWVGVIGINGATY YASWAKGRFTISRDN SKTTVYLQMNSLR AEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 43).

[00191] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYMNVWRQAPGKGLEWVGVIGINGATY YASWAKGRFTISRDN SKTTVYLQMNSLR AEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 44).

[00192] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 45; SEQ ID NO: 46; и SEQ ID NO: 47, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 41 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 42, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 48; SEQ ID NO: 49; и SEQ ID NO: 50, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 44, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR,

последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00193] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 41 или SEQ ID NO: 42. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 43 или SEQ ID NO: 44.

[00194] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 45; SEQ ID NO: 46; и SEQ ID NO: 47, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 41 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 42.

[00195] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 48; SEQ ID NO: 49; и SEQ ID NO: 50, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 44.

[00196] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 41; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 45; SEQ ID NO: 46; и SEQ ID NO: 47) вариабельной

области легкой цепи SEQ ID NO: 41; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 48; SEQ ID NO: 49; и SEQ ID NO: 50) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43.

[00197] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab5, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 42 и SEQ ID NO: 44, и обладающее, по меньшей мере, одной из биологических активностей, изложенных здесь.

[00198] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab5, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 41 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 41 и/или SEQ ID NO: 43 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

[00199] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab5 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab5, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab6

[00200] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную

ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID

NO: 51).

[00201] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY
SLSSLTTLTKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 52).

[00202] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYMNWVRQAPGKGLEWVGVIGINGATY YASWAKGRFTISRDNKTTVYLMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 53).

[00203] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYMNWVRQAPGKGLEWVGVIGINGATY
YASWAKGRFTISRDNKTTVYLMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSSASTKG
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 54).

[00204] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 56; и SEQ ID NO: 57, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или 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.

[00205] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 51 или SEQ ID NO: 52. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 53 или SEQ ID NO: 54.

[00206] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 56; и SEQ ID NO: 57, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 51 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 52.

[00207] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 58; SEQ ID NO: 59; и SEQ ID NO: 60, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 54.

[00208] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для

потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 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.

[00209] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab6, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 52 и SEQ ID NO: 54, и обладающее, по меньшей мере, одной из биологических активностей, изложенных здесь.

[00210] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab6, Fab-фрагмент для потенциального лечения или профилактики светобоязни включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 51 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 53. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 51 и/или SEQ ID NO: 53 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

[00211] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab6 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab6, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab7

[00212] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNYNLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV SSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 61).

[00213] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNYNLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV SSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFVPEAVKVVVDVSNHMGTTDITADITAVRQAPGKGLVGGVGGINGRTY YASWAKGRFTISRTSSTTVDLKMTRLTTEDTATYFCARGDIWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 62).

[00214] Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QEQLKESGGRLVTPGTSLTLTCTVSGIDLSNHMQWVRQAPGKGLEWIGVVGINGRTY YASWAKGRFTISRTSSTTVDLKMTRLTTEDTATYFCARGDIWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 63).

[00215] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QEQLKESGGRLVTPGTSLTLTCTVSGIDLSNHMQWVRQAPGKGLEWIGVVGINGRTY YASWAKGRFTISRTSSTTVDLKMTRLTTEDTATYFCARGDIWGPGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 64).

[00216] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для

потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 65; SEQ ID NO: 66; и SEQ ID NO: 67, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 62, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 68; SEQ ID NO: 69; и SEQ ID NO: 70, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 64, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00217] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 61 или SEQ ID NO: 62. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 63 или SEQ ID NO: 64.

[00218] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 65; SEQ ID NO: 66; и SEQ ID NO: 67, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 62.

[00219] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID

NO: 68; SEQ ID NO: 69; и SEQ ID NO: 70, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 64.

[00220] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 65; SEQ ID NO: 66; и SEQ ID NO: 67) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 68; SEQ ID NO: 69; и SEQ ID NO: 70) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63.

[00221] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab7, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 62 и SEQ ID NO: 64, и обладающее, по меньшей мере, одной из биологических активностей, изложенных здесь.

[00222] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab7, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 61 и/или SEQ ID NO: 63 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

[00223] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab7 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab7, или их Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно

продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab8

[00224] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную

ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSTGDCVFVGGGKVEIKR (SEQ ID
NO: 71).

[00225] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность,

представленную

ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSTGDCVFVGGGKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 72).

[00226] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNHMQWVRQAPGKGLEWVGVVINGRT
YYASWAKGRFTISRDNKTTVYLMNSLR AEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ
ID NO: 73).

[00227] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность,

представленную

ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNHMQWVRQAPGKGLEWVGVVINGRT
YYASWAKGRFTISRDNKTTVYLMNSLR AEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSSASTK

GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYS
LSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVIVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 74).

[00228] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 75; SEQ ID NO: 76; и SEQ ID NO: 77, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности 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 для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00229] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 71 или SEQ ID NO: 72. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 73 или SEQ ID NO: 74.

[00230] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 75; SEQ ID NO: 76; и SEQ ID NO: 77, соответствующих областям, определяющим

комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 72.

[00231] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 78; SEQ ID NO: 79; и SEQ ID NO: 80, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 74.

[00232] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 75; SEQ ID NO: 76; и SEQ ID NO: 77) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 78; SEQ ID NO: 79; и SEQ ID NO: 80) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73.

[00233] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab8, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 72 и SEQ ID NO: 74, и обладающее, по меньшей мере, одной из биологических активностей, изложенных здесь.

[00234] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab8, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления,

делеции и варианты SEQ ID NO: 71 и/или SEQ ID NO: 73 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

[00235] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab8 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab8, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab9

[00236] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV SSRFRGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 81).

[00237] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV SSRFRGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCFGSYDCSRGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAP SVFIFPPSDEQEKSGTASVCLLNFPYQKQWVQVVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSST YSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 82).

[00238] Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QSLEESGGRLVTPGTPPLTCTVSGIGLSSYYMQWVRQSPGRGLEWIGVIGSDGKTYA TWAKGRFTISKTSSTTVDLRMASTTEDTATYFCTRGDWGPGLVTVSS (SEQ ID NO: 83).

[00239] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для

потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QSLEESGGRLVTPGTPLTCTVSGIGLSSYYMQWVRQSPGRGLEWIGVIGSDGKTYYA
 TWAKGRFTISKTSSTTVDLRMA SLTTEDTATYFCTRGDWGPGLVTVSSASTKGPSVFP
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
 VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
 KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS
 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
 VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 84).

[00240] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 85; SEQ ID NO: 86; и SEQ ID NO: 87, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 82, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89; и SEQ ID NO: 90, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 84, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00241] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела, обладающего специфичностью связывания с CGRP, для потенциального лечения или профилактики светобоязни. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 81 или SEQ ID NO: 82. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 83 или SEQ ID

NO: 84.

[00242] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 85; SEQ ID NO: 86; и SEQ ID NO: 87, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 82.

[00243] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89; и SEQ ID NO: 90, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 84.

[00244] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 85; SEQ ID NO: 86; и SEQ ID NO: 87) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89; и SEQ ID NO: 90) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83.

[00245] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab9, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 82 и SEQ ID NO: 84, и обладающее, по меньшей мере, одной из биологических активностей, изложенных здесь.

[00246] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-

фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab9, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 81 и/или SEQ ID NO: 83 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

[00247] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab9 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, например, Ab9, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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

[00248] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
 PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 91).

[00249] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
 PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS
 VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
 SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 92).

[00250] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела

для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTY YATWAKGRFTISRDN SKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCTRGDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 93).

[00251] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTY YATWAKGRFTISRDN SKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCTRGDIWGQGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 94).

[00252] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 95; SEQ ID NO: 96; и SEQ ID NO: 97, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 92, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 98; SEQ ID NO: 99; и SEQ ID NO: 100, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 94, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00253] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для

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

[00254] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 95; SEQ ID NO: 96; и SEQ ID NO: 97, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 92.

[00255] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 98; SEQ ID NO: 99; и SEQ ID NO: 100, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 94.

[00256] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 95; SEQ ID NO: 96; и SEQ ID NO: 97) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 98; SEQ ID NO: 99; и SEQ ID NO: 100) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93.

[00257] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab10, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 92 и SEQ ID NO: 94, и обладающее, по меньшей мере, одной из биологических активностей, изложенных здесь.

[00258] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab10, Fab-фрагмент включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 91 и/или SEQ ID NO: 93 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

[00259] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab10 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab10, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab11

[00260] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QVLTQTASPVSPAVGSTVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV SSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 101).

[00261] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит

последовательность, представленную ниже:
 QVLTQTASPVSPA VGSTVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGV
 SSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAP
 SVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DST
 YSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 102).

[00262] Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QSLEESGGRLVTPGGSLTLTCTVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGVNGKRY Y
 ASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO:
 103).

[00263] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
 QSLEESGGRLVTPGGSLTLTCTVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGVNGKRY Y
 ASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPGLTVTVSSASTKGPSVF
 PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV
 TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP
 KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS
 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
 VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 104).

[00264] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 105; SEQ ID NO: 106; и SEQ ID NO: 107, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или 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 для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00265] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 101 или SEQ ID NO: 102. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 103 или SEQ ID NO: 104.

[00266] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 105; SEQ ID NO: 106; и SEQ ID NO: 107, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 101 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 102.

[00267] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 108; SEQ ID NO: 109; и SEQ ID NO: 110, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 104.

[00268] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID

NO: 101; переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 105; SEQ ID NO: 106; и SEQ ID NO: 107) переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 101; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 108; SEQ ID NO: 109; и SEQ ID NO: 110) переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103.

[00269] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab11, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 102 и SEQ ID NO: 104, и обладающее, по меньшей мере, одной из биологических активностей, изложенных здесь.

[00270] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab11, Fab-фрагмент включает последовательность переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 101 и последовательность переменной 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.

[00271] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab11 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab11, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab12

[00272] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизованные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность переменной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную

ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID
NO: 111).

[00273] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSY
SLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 112).

[00274] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWGVIGVNGKR
YYASWAKGRFTISRDNKTTVYLMNSLRRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ
ID NO: 113).

[00275] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWGVIGVNGKR
YYASWAKGRFTISRDNKTTVYLMNSLRRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYAST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 114).

[00276] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 115; SEQ ID NO: 116; и SEQ ID NO: 117, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи

SEQ ID NO: 111 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 112, и/или одной или более из 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 потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинаций одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00277] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 111 или SEQ ID NO: 112. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 113 или SEQ ID NO: 114.

[00278] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 115; SEQ ID NO: 116; и SEQ ID NO: 117, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 112.

[00279] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 118; SEQ ID NO: 119; и SEQ ID NO: 120, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 114.

[00280] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111; варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 115; SEQ ID NO: 116; и SEQ ID NO: 117) варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 118; SEQ ID NO: 119; и SEQ ID NO: 120) варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113.

[00281] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab12, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 112 и SEQ ID NO: 114, и обладающее, по меньшей мере, одной из биологических активностей, изложенных здесь.

[00282] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab12, Fab-фрагмент включает последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111 и последовательность варибельной 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.

[00283] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab12 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, например, Ab12, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia*

pastoris, но не ограничиваются им.

Антитело Ab13

[00284] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: AIVMTQTPSSKSVPGDVTINCQASESLYNNNALAWFQQKPGQPPKRLIYDASKLASG VPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCGGYRSDSVDGVAFAGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 121).

[00285] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: AIVMTQTPSSKSVPGDVTINCQASESLYNNNALAWFQQKPGQPPKRLIYDASKLASG VPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCGGYRSDSVDGVAFAGGTEVVVKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 122).

[00286] Кроме того, настоящее изобретение включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QSVEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFDFSSNAMWWVRQAPGKGLEWIGIYNGDGSTY YASWVNGRFSISKTSSTTVTLQLNSLTVADTATYYCARDLDLWPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 123).

[00287] Настоящее изобретение также включает химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже: QSVEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFDFSSNAMWWVRQAPGKGLEWIGCIYNGDGSTY YASWVNGRFSISKTSSTTVTLQLNSLTVADTATYYCARDLDLWPGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ

GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 124).

[00288] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 125; SEQ ID NO: 126; и SEQ ID NO: 127, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 122, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 128; SEQ ID NO: 129; и SEQ ID NO: 130, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 124, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинации одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00289] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 121 или SEQ ID NO: 122. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 123 или SEQ ID NO: 124.

[00290] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 125; SEQ ID NO: 126; и SEQ ID NO: 127, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 122.

[00291] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни,

обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 128; SEQ ID NO: 129; и SEQ ID NO: 130, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 124.

[00292] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 125; SEQ ID NO: 126; и SEQ ID NO: 127) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 128; SEQ ID NO: 129; и SEQ ID NO: 130) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123.

[00293] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab13, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 122 и SEQ ID NO: 124, и обладающее, по меньшей мере, одной из биологических активностей, изложенных здесь.

[00294] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab13, Fab-фрагмент для потенциального лечения или профилактики светобоязни включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121 и последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123. Указанный вариант воплощения настоящего изобретения дополнительно рассматривает добавления, делеции и варианты SEQ ID NO: 121 и/или SEQ ID NO: 123 в указанном Fab, при условии сохранения специфичности связывания с CGRP.

[00295] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить

путем ферментативного гидролиза Ab13 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, например, Ab13, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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

[00296] В одном варианте воплощения настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 131).

[00297] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность легкой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 132).

[00298] Кроме того, настоящее изобретение включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность вариабельной области тяжелой цепи которых содержит последовательность, представленную ниже:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTY
YATWAKGRFTISRDNKTTVYQLQMNSLRAEDTAVYFCTRGDIVGGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 133).

[00299] Настоящее изобретение также включает гуманизированные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания по отношению к CGRP, последовательность тяжелой цепи которых содержит

последовательность, представленную ниже:
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTY
 YATWAKGRFTISRDNSTTVYVYLMNSLRAEDTAVYFCTRGDIWGQGLVTVSSASTKG
 PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
 FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
 KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 134).

[00300] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие одну или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 135; SEQ ID NO: 136; и SEQ ID NO: 137, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 132, и/или одной или более из полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 138; SEQ ID NO: 139; и SEQ ID NO: 140, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 134, или комбинации указанных полипептидных последовательностей. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела по изобретению или их фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из комбинации одного или более из CDR, последовательностей вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей тяжелой и легкой цепи, приведенных выше, включая все из них.

[00301] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающего специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 131 или SEQ ID NO: 132. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител по изобретению для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из полипептидной последовательности SEQ ID NO: 133 или SEQ ID NO: 134.

[00302] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения

фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 135; SEQ ID NO: 136; и SEQ ID NO: 137, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 132.

[00303] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полипептидных последовательностей SEQ ID NO: 138; SEQ ID NO: 139; и SEQ ID NO: 140, соответствующих областям, определяющим комплементарность (CDR, или гипервариабельным областям) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 134.

[00304] Настоящее изобретение также рассматривает фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие один или более из фрагментов антител, описанных здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих фрагментов антител: вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131; вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133; областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 135; SEQ ID NO: 136; и SEQ ID NO: 137) вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131; и областей, определяющих комплементарность (SEQ ID NO: 138; SEQ ID NO: 139; и SEQ ID NO: 140) вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133.

[00305] В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения гуманизированное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни представляет собой Ab14, включающее или, в качестве альтернативы, состоящее из SEQ ID NO: 132 и SEQ ID NO: 134, и обладающее, по меньшей мере, одной из биологических активностей, изложенных здесь.

[00306] В дополнительном особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни включают или, в качестве альтернативы, состоят из Fab-фрагментов (антигенсвязывающих фрагментов), обладающих специфичностью

связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab14, Fab-фрагмент для потенциального лечения или профилактики светобоязни включает последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131 и 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.

[00307] В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для потенциального лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab14 (например, папаином). В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, например, Ab14, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

[00308] В еще одном варианте воплощения фрагменты антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни могут находиться в одной или более из следующих неограничивающих форм: Fab, Fab', F(ab')₂, Fv и формы одноцепочечных Fv-антител. В предпочтительном варианте воплощения антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, описанные здесь, дополнительно включают последовательность константной каппа-области легкой цепи, включающую последовательность, представленную ниже:

[00309] VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 283).

[00310] В еще одном предпочтительном варианте воплощения антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, описанные здесь, дополнительно включают полипептидную последовательность константной гамма-1-области тяжелой цепи, включающую последовательность, представленную ниже:

[00311] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAFSTGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR

EPQVYTFPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 284).

[00312] В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение рассматривает выделенное антитело против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающее последовательность V_H -полипептида, выбранную из: SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103, 113, 123 или 133, или ее вариант, и дополнительно включающее последовательность V_L -полипептида, выбранную из: SEQ ID NO: 1, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121 или 131, или ее вариант, где один или более из каркасных остатков (FR-остатков) в указанном V_H - или V_L -полипептиде замещен остатком другой аминокислоты, что приводит к получению антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, специфически связывающего CGRP. Настоящее изобретение рассматривает гуманизированные и химерные формы указанных антител. Химерные антитела для потенциального лечения или профилактики светобоязни могут включать F_c , полученный из константных областей IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgG5, IgG6, IgG7, IgG8, IgG9, IgG10, IgG11, IgG12, IgG13, IgG14, IgG15, IgG16, IgG17, IgG18 или IgG19.

[00313] В одном варианте воплощения настоящего изобретения, антитела или V_H - или V_L -полипептиды происходят или выбраны из одной или более популяций В-клеток кролика до начала процесса гуманизации, упомянутого здесь.

[00314] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP и их фрагменты не обладают специфичностью связывания с CGRP-R. В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP и их фрагменты ингибируют связывание CGRP с CGRP-R. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP и их фрагменты ингибируют связывание CGRP с CGRP-R и/или его дополнительными белками и/или мультимерами, и/или оказывают антагонистическое действие на их биологические эффекты.

[00315] Как указано здесь, антитела и их фрагменты можно модифицировать после трансляции путем добавления эффекторных групп, например, химических линкеров, обнаруживаемых молекул, например, флуоресцентных красителей, ферментов, субстратов, биолюминесцентных материалов, радиоактивных материалов и хемилюминесцентных групп, или функциональных групп, например, стрептавидина, авидина, биотина, цитотоксина, цитотоксического агента и радиоактивных материалов.

[00316] 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.

[00317] 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., *Bioconj. Chem.* 10:638-646 (1999), раскрытие каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00318] 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.

[00319] Как указано выше, полиэтиленгликоль можно присоединить к белкам посредством связи с любым из ряда аминокислотных остатков. Например, полиэтиленгликоль можно связать с полипептидами посредством ковалентных связей с остатками лизина, гистидина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты или цистеина. Одну или более реакционноспособных химических групп можно использовать для присоединения полиэтиленгликоля к специфическим аминокислотным остаткам (например, лизина, гистидина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты или цистеина) или к аминокислотному остатку более чем одного типа (например, лизина, гистидина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, цистеина и их комбинациям).

[00320] В качестве альтернативы, антитела или их фрагменты могут обладать повышенным временем полужизни *in vivo* за счет объединения с альбумином (включая, но не ограничиваясь, рекомбинантным человеческим сывороточным альбумином или его фрагментами или вариантами (см., например, патент США № 5876969, выданный 2 марта 1999 г., патент EP 0 413 622 и патент США № 5766883, выданный 16 июня 1998 г., которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки)) или другими циркулирующими белками крови, например, трансферрином или ферритином. В предпочтительном варианте воплощения полипептиды и/или антитела по настоящему изобретению (включая их фрагменты или варианты) объединяют со зрелой формой человеческого сывороточного альбумина (т.е. аминокислотами 1-585 человеческого сывороточного альбумина, как показано на фиг. 1 и 2 патента EP 0 322 094), который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Полинуклеотиды, кодирующие гибридные белки по изобретению, также входят в рамки изобретения.

[00321] 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 биолюминесцентные материалы включают люциферин и экворин, но не ограничиваются ими. Дополнительные типичные радиоактивные материалы включают иод-125 (^{125}I), углерод-14 (^{14}C), серу-35 (^{35}S), тритий (^3H) и фосфор-32 (^{32}P), но не ограничиваются ими.

[00322] 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 С, ломустин (CCNU), 1-метилнитрозомочевину, циклофосфамид, хлорметин, бусульфан, дибромманнит, стрептозотоцин, митомицин С, цис-дихлордиаминплатину (II) (DDP), цисплатин и карбоплатин (параплатин), антрациклины, включая даунорубицин (ранее дауномицин), доксорубицин (адриамицин), деторубицин, карминомицин, идарубицин, эпирубицин, митоксантрон и бисантрен; антибиотики, включая дактиномицин (ранее актиномицин D), блеомицин, калихемицин, митрамицин и антрамицин (AMC)) и антимиотические 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.

[00323] 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)).

[00324] Другие цитотоксические агенты включают цитотоксические рибонуклеазы, как описано Goldenberg в патенте США № 6653104. Варианты воплощения настоящего изобретения также относятся к радиоиммуноконъюгатам, где радионуклид, излучающий

альфа- или бета-частицы, стабильно присоединен к антителу или его связывающим фрагментам, с использованием или без использования комплексообразователя. Такие радионуклиды включают бета-излучающие агенты, например, фосфор-32 (^{32}P), скандий-47 (^{47}Sc), медь-67 (^{67}Cu), галлий-67 (^{67}Ga), иттрий-88 (^{88}Y), иттрий-90 (^{90}Y), иод-125 (^{125}I), иод-131 (^{131}I), самарий-153 (^{153}Sm), лютеций-177 (^{177}Lu), рений-186 (^{186}Re) или рений-188 (^{188}Re), и альфа-излучающие агенты, например, астат-211 (^{211}At), свинец-212 (^{212}Pb), висмут-212 (^{212}Bi) или -213 (^{213}Bi) или актиний-225 (^{225}Ac).

[00325] 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)

[00326] 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.

[00327] 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.

[00328] В другом варианте воплощения настоящее изобретение дополнительно рассматривает вышеописанные полипептидные гомологи фрагментов антител, переменных областей и CDR, представленные здесь и дополнительно обладающие активностью против CGRP. Неограничивающие примеры активности против CGRP приведены здесь, например, в абзацах [0329] - [0350] ниже.

[00329] 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.

[00330] Настоящее изобретение также рассматривает антитела против CGRP для потенциального лечения или профилактики светобоязни, включающие любую из полипептидных или полинуклеотидных последовательностей, описанных здесь, замещенную на любую из других полинуклеотидных последовательностей, описанных здесь. Например, но не ограничиваясь этим, настоящее изобретение рассматривает антитела, включающие комбинацию любой из последовательностей переменной области легкой цепи и переменной 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

[00331] В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение рассматривает одно или более антител против CGRP человека или фрагменты указанных антител для потенциального лечения или профилактики светобоязни, специфически связывающиеся с тем(и) же или перекрывающимся(ися) линейным(и) или конформационным(и) эпитопом(ами) и/или конкурирующие за связывание с тем(и) же или перекрывающимся(ися) линейным(и) или конформационным(и) эпитопом(ами) интактного полипептида CGRP человека или его фрагмента, что и антитело против CGRP человека, выбранное из Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab12,

Ab13 или Ab14. В предпочтительном варианте воплощения антитело против CGRP человека или его фрагмент специфически связывается с тем(и) же или перекрывающимся(ися) линейным(и) или конформационным(и) эпитопом(ами) и/или конкурирует за связывание с тем(и) же или перекрывающимся(ися) линейным(и) или конформационным(и) эпитопом(ами) интактного полипептида CGRP человека или его фрагмента, что и Ab3, Ab6, Ab13 или Ab14, а наиболее предпочтительно - Ab3.

[00332] Предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения направлен на химерные или гуманизированные антитела и их фрагменты (в том числе Fab-фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP и ингибирующие биологическую активность, опосредованную связыванием CGRP с рецептором CGRP, в особенности для лечения или профилактики светобоязни. В особенно предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения химерные или гуманизированные антитела против CGRP выбраны из Ab3, Ab6, Ab13 или Ab14, или, более предпочтительно - Ab3.

[00333] 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 и лечить состояния, связанные с избытком CGRP, в особенности их способности лечить или предотвращать светобоязнь, например, при мигрени.

[00334] Более специфический предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения включает способ оценки потенциальной эффективности *in vivo* кандидата-полипептида, ингибирующего CGRP/рецептор CGRP, например, антитела или фрагмента антитела против CGRP, включающий определение способности антитела ингибировать поведение, связанное с отвращением к свету, у грызунов, которым вводили CGRP, по сравнению с грызунами, которым вводили CGRP в отсутствие антитела-кандидата или фрагмента антитела против CGRP.

[00335] Более специфический предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения включает способ оценки потенциальной эффективности *in vivo* антитела-кандидата или фрагмента антитела против CGRP при лечении неврологического состояния, характеризующегося повышенными уровнями CGRP и светобоязнью.

[00336] 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 со светобоязнью, например, мигрени

или хронической мигрени (с аурой или без нее) или состояний, например, потери массы тела, рака или опухолей, ангиогенеза, связанного с раковым или опухолевым ростом, ангиогенеза, связанного с выживанием рака или опухоли, диареи, 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 мигрени, вызванных аллергией, боли, мигрени без головной боли, мигрени с тошнотой и рвотой, 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, менструальной боли, 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. Еще один предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения включает способ определения подходящей терапевтической дозы или схемы приема кандидата-антитела или фрагмента антитела против CGRP для человека с целью лечения состояния, связанного со светобоязнью,

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

[00337] Еще один предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения относится к способам оценки подходящей терапевтической дозы или режима приема кандидата-антитела или фрагмента антитела против CGRP в организме человека на основе результатов, полученных на животной модели CGRP у грызунов.

[00338] Другие предпочтительные варианты воплощения настоящего изобретения направлены на скрининговые анализы и терапевтическое применение специфических антител и их фрагментов для лечения или профилактики светобоязни, обладающих

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

[00339] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения рассматривается способ снижения, лечения или профилактики заболеваний или нарушений, ассоциированных с CGRP, путем воздействия на указанную биологическую активность, опосредованную CGRP, в особенности ингибирования или предотвращения светобоязни, тем самым избегая нежелательной биологической активности, опосредованной связыванием CGRP с CGRP-R. В одном варианте воплощения заболевание или расстройство, связанное со светобоязнью, является мигренью, головной болью, болью или другими вышеупомянутыми состояниями, связанными со светобоязнью. Здесь представлен дополнительный нелимитирующий список заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP.

[00340] Еще один предпочтительный вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает применение последовательностей Fab-полипептидов для лечения мигрени и головных болей, в особенности для лечения или профилактики светобоязни у пациента. Неограничивающие типы мигрени и головных болей, которые можно лечить с помощью последовательностей Fab-полипептидов, приведены в настоящем раскрытии.

[00341] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитело против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни является антителом, специфически связывающимся с теми же перекрывающимися линейными или конформационными эпитопами интактного полипептида CGRP или его фрагмента, который(е) специфически связывается(ются) с Ab3, Ab6, Ab13 или Ab14, согласно картированию эпитопов с использованием перекрывающихся линейных пептидных фрагментов, охватывающих всю длину нативного полипептида CGRP человека.

[00342] Настоящее изобретение также направлено на антитело против CGRP для лечения или профилактики светобоязни, связывающееся с тем же эпитопом CGRP и/или конкурирующее за связывание с CGRP с антителом против CGRP, что и антитело или фрагмент антитела, раскрытые здесь, включая антитело против CGRP, выбранное из Ab1,

Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab12, Ab13 или Ab14, предпочтительно Ab6, Ab10, Ab12 или Ab3, но не ограничиваясь им. Как упоминалось, распространенные причины светобоязни включают головные боли при мигрени, катаракту или тяжелые офтальмологические заболевания, например, увеит или истирание роговицы. Расширенный список расстройств, связанных со светобоязнью, включает офтальмологические причины, например, ахроматопию, аниридию, антихолинэргические препараты, способные вызывать светобоязнь, парализуя сфинктер радужной оболочки, афакию (отсутствие хрусталика глаза), буфтальм (аномально узкий угол между роговицей и радужной оболочкой), катаракту, колбочковую дегенерацию, врожденные аномалии глаза, вирусный конъюнктивит (острый эпидемический конъюнктивит), истирание роговицы, дистрофию роговицы, язву роговицы, расстройство эпителия роговицы, например, вызванное инородным телом роговицы или кератитом, эктопию хрусталика, эндофтальмит, травму глаз, вызванную заболеванием, повреждением или инфекцией, например, халазионом, эписклеритом, глаукомой, кератоконусом или гипоплазией зрительного нерва, гидрофтальм или врожденную глаукому, ирит, неврит зрительного нерва, синдром диспергирования пигмента, расширение зрачков (естественное или химически индуцированное), отслоение сетчатки, рубцы роговицы или склеры и увеит.

[00343] Кроме того, причины светобоязни могут быть связаны с нервной или мочевыделительной системой, включая: расстройства аутистического спектра, порок Киари, дислексию, энцефалит, включая миалгический энцефаломиелит или синдром хронической усталости, менингит, субарахноидальное кровоизлияние, опухоль задней черепной ямки, а также другие причины, например, анкилозирующий спондилит, альбинизм, арибофлавиноз, бензодиазепины (длительное применение или отмену бензодиазепинов), химиотерапию, лихорадку чикунгунья, цистиноз, синдром Элерса-Данло, похмелье, грипп, инфекционный мононуклеоз, дефицит магния, отравление ртутью, мигрень, бешенство и тирозинемия II типа, также известную как "синдром Рихнера-Ханхарта". Кроме того, известно, что светобоязнь повышена при депрессии, биполярном расстройстве и агорафобии.

[00344] В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение также направлено на выделенное антитело или фрагмент антитела против CGRP для лечения или профилактики светобоязни, включающее один или более из CDR, содержащихся в последовательностях V_H -полипептида, выбранных из: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103, 113, 123 или 133, или их варианта, и/или одного или более из CDR, содержащихся в последовательностях V_L -полипептида, выбранных из: 1, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121, или 131, или их варианта.

[00345] В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитело против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни, обсуждаемое в двух предыдущих абзацах, включает, по меньшей мере, 2 области, определяющие комплементарность (CDR) в каждой вариабельной области легкой и тяжелой 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.

[00346] В предпочтительном варианте воплощения антитело против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни, обсуждаемое выше, включает, по меньшей мере, 2 области, определяющие комплементарность (CDR) в каждой вариабельной области легкой и тяжелой 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, Ab10, Ab12 или Ab6.

[00347] Настоящее изобретение также предусматривает, что одно или более из антител против CGRP человека, обсуждаемых выше для лечения или профилактики светобоязни, агликозилированы либо минимально гликозилированы, т.е. не содержат N-гликозилированных остатков, и включают некоторые O-гликозилированные остатки, например, 1 или более остатков маннозы; например, антитела содержат Fc-область, модифицированную с целью изменения эффекторной функции, времени полужизни, протеолиза и/или гликозилирования; являются антителами человека, гуманизированными, одноцепочечными или химерными антителами; и являются гуманизированным антителом, происходящим от антитела кролика (исходного антитела) против CGRP человека.

[00348] Кроме того, изобретение рассматривает одно или более антител против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни, где каркасные области (FR) в вариабельных областях легких и тяжелых цепей указанного антитела соответственно являются FR человека, немодифицированными или модифицированными путем замены одного или более остатков FR человека в вариабельных областях легких или тяжелых цепей соответствующими остатками FR исходного антитела кролика, и где указанные FR человека происходят от последовательностей вариабельных областей легких и тяжелых цепей антитела человека, выбранных из библиотеки последовательностей антител эмбрионального типа человека на основании высокого уровня их гомологии с соответствующими вариабельными областями легких или тяжелых цепей кролика по

сравнению с другими последовательностями антител эмбрионального типа человека, содержащимися в библиотеке.

[00349] В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитело или фрагмент против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни специфически связывается с CGRP-экспрессирующими клетками человека и/или циркулирующими растворимыми молекулами CGRP *in vivo*, включая CGRP, экспрессированный на клетках или клетками человека при заболевании, ассоциированном с клетками, экспрессирующими CGRP.

[00350] В еще одном варианте воплощения указанное заболевание выбрано из светобоязни или отвращения к свету, связанных с одним или более из: мигрени (с аурой или без нее), менструальной головной боли, менструальной мигрени, менопаузальной мигрени или другой гормонально опосредованной мигрени, гемиплегической мигрени, кластерных головных болей, мигренозной невралгии, хронических головных болей, головных болей напряжения, общей головной боли, мигрени, ассоциированной с "приливами", хронической пароксизмальной гемикрании, вторичных головных болей вследствие основной структурной проблемы в области головы или шеи, черепной невралгии, синусных головных болей (например, связанных с синуситом), головных болей или мигрени, вызванных аллергией, мигрени без головных болей и мигрени с тошнотой и рвотой.

[00351] Кроме того, настоящее изобретение рассматривает антитела или фрагменты против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни, непосредственно или косвенно присоединенные к обнаруживаемой метке или терапевтическому агенту.

[00352] Настоящее изобретение также рассматривает одну или более из нуклеотидных последовательностей, приводящих к экспрессии антитела или фрагмента антитела против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни, как представлено выше, в том числе последовательностей, содержащих или, в качестве альтернативы, состоящих из предпочтительных кодонов дрожжей или человека. Настоящее изобретение также рассматривает векторы (в том числе плазмидные или рекомбинантные вирусные векторы), включающие указанную(ые) нуклеотидную(ые) последовательность(и). Настоящее изобретение также рассматривает клетки-хозяева или рекомбинантные клетки-хозяева, экспрессирующие, по меньшей мере, одно из антител, представленных выше, в том числе клетки млекопитающих, дрожжей, бактерий и насекомых. В предпочтительном варианте воплощения клетка-хозяин является дрожжевой клеткой. В другом предпочтительном варианте воплощения указанная дрожжевая клетка является диплоидной дрожжевой клеткой. В более предпочтительном варианте

воплощения указанная дрожжевая клетка является клеткой дрожжей *Pichia*.

[00353] Настоящее изобретение также рассматривает способ лечения, включающий введение пациенту с заболеванием или состоянием, связанным с клетками, экспрессирующими CGRP, терапевтически эффективного количества, по меньшей мере, одного антитела или его фрагмента против CGRP человека для лечения или профилактики светобоязни, описанного здесь. Настоящее изобретение также предусматривает, что указанный способ лечения может включать введение двух или более антител против CGRP или их фрагментов, раскрытых здесь. Если пациенту вводят более одного антитела, указанные множественные антитела можно вводить одновременно или согласованно, или со сдвигом по отношению друг к другу. Заболевания, которые можно лечить, представлены в неограничивающем списке, изложенном выше и в других разделах настоящего документа. В предпочтительном варианте воплощения указанное заболевание, связанное со светобоязнью, выбрано из мигрени, головной боли, боли, диареи, раковой боли или невропатической боли. В еще одном варианте воплощения лечение дополнительно включает введение другого терапевтического агента или схемы лечения, выбранной из химиотерапии, лучевой терапии, введения цитокинов или генной терапии.

[00354] 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, доксорубин, алкилирующие агенты, например, циклофосфамид, антиметаболиты, например, 5-фторурацил или этопозид.

[00355] 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.

[00356] Антагонистическую по отношению к CGRP активность антител против CGRP по настоящему изобретению и их фрагментов для лечения или профилактики светобоязни, обладающих специфичностью связывания с CGRP, можно также описать по их силе связывания или их 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 (K_D), 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.

[00357] 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.

[00358] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения антагонистическая по отношению к CGRP активность антител против CGRP по настоящему изобретению и их фрагментов, обладающих специфичностью связывания с CGRP, характеризуется проявлением активности против CGRP путем предотвращения, облегчения или снижения симптомов или, в качестве альтернативы, лечения заболеваний или расстройств, ассоциированных с CGRP, в особенности для лечения или профилактики светобоязни. Здесь представлены неограничивающие примеры заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP, и состояний, ассоциированных со светобоязнью.

Полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител против CGRP

Антитело Ab1

[00359] 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:

[00360] CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACT
CTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT

TATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGT (SEQ ID NO: 141).

[00361] 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:

[00362] CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCCT
CTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT
TATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
AAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
AAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
142).

[00363] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3:

[00364] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCC
CTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGACTCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGG
GTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTAATGA
TAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGCCTCGT
CGACCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTAT
TTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCAGGCACCCTCGTCACCGTCTCGAGC
(SEQ ID NO: 143).

[00365] 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:

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACT

CACCTGCACAGTCTCTGGACTCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTAATGATAACACAT
ACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGCCTCGTCGACCACG
GTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCC
AGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAA
GGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC
GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGA
ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAG
GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGA
CCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTC
CTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATC
TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA
GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC
CGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCCTG
CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCT
CCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC
AGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG
ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA
TGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT
CCTTCTTCTTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC
GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC
CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 144).

[00366] 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.

[00367] 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.

[00368] 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.

[00369] В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab1, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab1, включают или, в альтернативном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 142, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 2, и полинуклеотида SEQ ID NO: 144, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 4.

[00370] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не

ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab1 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab1, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab1 в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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 Ab2

[00371] 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:

[00372] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGT
TATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATC
AAACGT (SEQ ID NO: 151).

[00373] 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:

[00374] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGT
TATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATC
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG

AAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
 AAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
 CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
 GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
 CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
 152).

[00375] 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: 13:

[00376] GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG
 GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGACTCGACCTCAGTAGCTACTACATGCA
 ATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCATTGGTATCA
 ATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC
 AATCCAAGACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC
 TGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTC
 GAGC (SEQ ID NO: 153).

[00377] В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 14:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG
 ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGACTCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCG
 TCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCATTGGTATCAATGATAACA
 CATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG
 ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCT
 TGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC
 CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
 CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG
 GTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTC
 CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA
 GAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG
 AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCA
 TGATCTCCCGGACCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC

CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC
AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA
GCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA
CGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA
AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 154).

[00378] 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.

[00379] 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.

[00380] 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.

[00381] 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.

[00382] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab2 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab2, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab2 в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab3

[00383] 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:

[00384] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTA CTGTCTAGGCAGT
TATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATC
AAACGT (SEQ ID NO: 161).

[00385] 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:

[00386] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTA CTGTCTAGGCAGT
TATGATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATC
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
AAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
AAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
162).

[00387] 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:

[00388] GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGACTCGACCTCAGTAGCTACTACATGCA
ATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTATCA

ATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC
 AATTCCAAGACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC
 TGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTC
 GAGC (SEQ ID NO: 163).

[00389] В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 24:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG
 ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGACTCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCG
 TCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTGGAGTCATTGGTATCAATGATAACA
 CATACTACGCGAGCTGGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG
 ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTTC
 TGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC
 CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
 CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC
 GTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTC
 CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGA
 GAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG
 AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCA
 TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC
 CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC
 AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA
 GCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
 ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
 GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
 AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA
 CGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 164).

[00390] 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.

[00391] 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.

[00392] 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.

[00393] 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.

[00394] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты для лечения или профилактики светобоязни можно получить путем ферментативного гидролиза Ab3 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP для лечения или профилактики светобоязни, например, Ab3, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab3 в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab4

[00395] Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 31:

[00396] CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAACAACCTGATCTATGATGCATCCAC
TCTGGCGTCTGGGGTCCCATCGCGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCAC
TCTCACCATCAGCGGCGTGCAGTGTAACGATGCTGCCGCTTACTACTGTCTGGGCAG
TTATGATTGТАCTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGT
CAAACGT (SEQ ID NO: 171).

[00397] 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:

[00398] CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAACAACCTGATCTATGATGCATCCAC
TCTGGCGTCTGGGGTCCCATCGCGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCAC
TCTCACCATCAGCGGCGTGCAGTGTAACGATGCTGCCGCTTACTACTGTCTGGGCAG
TTATGATTGTAATAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGT
CAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT
GAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGC
CAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTG
TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTG
AGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGG
CCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
172).

[00399] 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: 33:

[00400] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCC
CTGACACTCACCTGTTCCGTCTCTGGCATCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGG
GTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTAATGG
TGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTC
GACCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATT
TCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCGGGCACCCCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ
ID NO: 173).

[00401] 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:

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACT
CACCTGTTCCGTCTCTGGCATCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTAATGGTGCCACAT
ACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACG

GTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCC
AGAGGGGACATCTGGGGCCCGGGCACCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAA
GGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC
GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGA
ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAG
GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGA
CCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTC
CTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATC
TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA
GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC
CGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTG
CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCT
CCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC
AGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG
ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA
TGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT
CCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC
GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC
CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 174).

[00402] 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.

[00403] 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.

[00404] 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.

[00405] 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.

[00406] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab4 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем

хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab4, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab4 в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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 Ab5

[00407] 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:

[00408] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGCATCCAC
TCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTTAC
TCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTA CTGTCTGGGCAG
TTATGATTGTA CTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAAT
CAAACGT (SEQ ID NO: 181).

[00409] 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:

[00410] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGCATCCAC
TCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTTAC
TCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTA CTGTCTGGGCAG
TTATGATTGTA CTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAAT
CAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTT
GAAATCTGGA ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGC
CAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTG
TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTG

AGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGG
CCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
182).

[00411] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43:

[00412] GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACCTCAGTGGCTACTACATGAA
CTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTATTA
ATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC
AATCCAAGACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC
TGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTC
GAGC (SEQ ID NO: 183).

[00413] 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:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCG
TCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTATTAATGGTGCCA
CATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG
ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCT
TGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC
CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC
GTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTC
CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA
GAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG
AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCA
TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC
CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC
AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA

GCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA
CGGCTCCTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA
AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 184).

[00414] 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.

[00415] 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.

[00416] 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 переменной 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 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 44.

[00417] 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.

[00418] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab5 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab5, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab5 в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab6

[00419] 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: 51:

[00420] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGCATCCAC
TCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTAC
TCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTA CTGTCTGGGCAG
TTATGATTGTA CTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAAT
CAAACGT (SEQ ID NO: 191).

[00421] 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:

[00422] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGCATCCAC
TCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTAC
TCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTA CTGTCTGGGCAG
TTATGATTGTA CTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAAT
CAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT
GAAATCTGGA ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGC
CAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTG
TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTG
AGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGG
CCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
192).

[00423] 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:

[00424] GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACCTCAGTGGCTACTACATGAA
CTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCATTGGTATTA
ATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC
AATCCAAGACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC
TGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTC

GAGC (SEQ ID NO: 193).

[00425] 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:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG
 ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCG
 TCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTGGAGTCATTGGTATTAATGGTGCCA
 CATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG
 ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTTC
 TGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC
 CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
 CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC
 GTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTC
 CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGA
 GAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCACAGCACCTG
 AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCA
 TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC
 CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC
 AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTGCAGCGTCCTCACCG
 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA
 GCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
 ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
 GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
 AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA
 CGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 194).

[00426] 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.

[00427] 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.

[00428] 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.

[00429] 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,

кодирующей последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 54.

[00430] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab6 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab6, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab6 в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab7

[00431] Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 61:

[00432] CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATAATTACAACCTACCTTGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCT
CTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT
TATGACTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGT (SEQ ID NO: 201).

[00433] 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:

[00434] CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC

ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATAATTACAACCTACCTTGCC
 TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
 CTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCCT
 CTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT
 TATGACTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
 AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
 AAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
 AAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
 CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
 GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
 CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
 202).

[00435] 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:

[00436] CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGAC
 ATCCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGAATCGACCTCAGTAACCACTACATGCA
 ATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGAGTCGTTGGTATTA
 ATGGTCGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAACC
 TCGTCGACCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGGCTGACAACCGAGGACACGGCCAC
 СТАТТТCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTCGAG
 C (SEQ ID NO: 203).

[00437] 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:

CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACATCCCTGAC
 ACTCACCTGCACCGTCTCTGGAATCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGGTCCG
 CCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGAGTCGTTGGTATTAATGGTCGCA
 CATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAACCTCGTCGACC
 ACGGTGGATCTGAAAATGACCAGGCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTG
 TGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCA
 CCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCA
 CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT

GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCT
CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCC
AGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA
GTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAA
CTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATG
ATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC
TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC
CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGC
CCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGC
CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG
CAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACG
GCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG
AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAG
AGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 204).

[00438] 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.

[00439] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 208; SEQ ID NO: 209; и SEQ ID NO: 210, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 63 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 64.

[00440] Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном

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

[00441] В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab7, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab7, включают или, в 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.

[00442] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab7 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab7, или их Fab'-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab7 в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например,

клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab8

[00443] 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:

[00444] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTACAATTACAACCTACCTTGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGT
TATGATTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGC GGAGGAACCAAGGTGGAAATC
AAACGT (SEQ ID NO: 211).

[00445] 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:

[00446] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTACAATTACAACCTACCTTGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGT
TATGATTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGC GGAGGAACCAAGGTGGAAATC
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
AAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
AAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
212).

[00447] 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: 73:

[00448] GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACCTCAGTAACCACTACATGCA
ATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCGTTGGTATCA
ATGGTTCGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC
AATCCAAGACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC
TGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTC
GAGC (SEQ ID NO: 213).

[00449] В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 74:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGGTCCG
TCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCGTTGGTATCAATGGTCGCA
CATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG
ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCT
TGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC
CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG
GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTC
CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA
GAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCACAGCACCTG
AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCA
TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC
CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC
AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA
GCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA

CGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA
AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO: 214).

[00450] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 215; SEQ ID NO: 216; и SEQ ID NO: 217, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 72.

[00451] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 218; SEQ ID NO: 219; и SEQ ID NO: 220, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 74.

[00452] Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 211, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71; полинуклеотида SEQ ID NO: 212, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 72; полинуклеотида SEQ ID NO: 213, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73; полинуклеотида SEQ ID NO: 214, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 74; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 215; SEQ ID NO: 216; и SEQ ID NO: 217) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 71 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 72; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 218; SEQ ID NO: 219; и SEQ ID

NO: 220) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 73 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 74.

[00453] 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.

[00454] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab8 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab8, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab8 в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab9

[00455] 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:

[00456] CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAATGTTTATAATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACGTCCACT

CTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAGAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCAC
 CTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT
 TATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
 AAACGT (SEQ ID NO: 221).

[00457] 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:

[00458] CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGC
 ACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAATGTTTATAATAACAACCTACCTAGCC
 TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCAAGCAACTGATCTATTCTACGTCCACT
 CTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAGAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCAC
 CTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT
 TATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
 AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
 AAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
 AAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
 CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
 GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
 CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
 222).

[00459] 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:

[00460] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCC
 CTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAGTGG
 GTCCGCCAGTCTCCAGGGAGGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTAGTGATGG
 TAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAGACCTCGT
 CGACCACGGTGGATCTGAGAATGGCCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTAT
 TTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCCGGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGC
 (SEQ ID NO: 223).

[00461] 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:

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACT
 CACCTGCACAGTCTCTGGAATCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAGTGGGTCCGCCA
 GTCTCCAGGGAGGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTAGTGATGGTAAGACAT
 ACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAGACCTCGTCGACCACG
 GTGGATCTGAGAATGGCCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTACC
 AGAGGGGACATCTGGGGCCCGGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAA
 GGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC
 GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGA
 ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCTACAGTCCTCAG
 GACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGA
 CCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
 GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTC
 CTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATC
 TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA
 GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC
 CGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTG
 CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCT
 CCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC
 AGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG
 ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA
 TGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT
 CCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC
 GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC
 CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 224).

[00462] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 225; SEQ ID NO: 226; и SEQ ID NO: 227, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 81 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 82.

[00463] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью

связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 228; SEQ ID NO: 229; и SEQ ID NO: 230, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 83 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 84.

[00464] 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.

[00465] 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.

[00466] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе

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

Антитело Ab10

[00467] 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:

[00468] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAATGTTTACAATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTA CTGTCTGGGCAGT
TATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGC GGAGGAACCAAGGTGGAAATC
AAACGT (SEQ ID NO: 231).

[00469] 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:

[00470] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAATGTTTACAATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTA CTGTCTGGGCAGT

TATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATC
 AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
 AAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
 AAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
 CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
 GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
 CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
 232).

[00471] 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: 93:

[00472] GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG
 GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCA
 ATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCATTGGTAGTG
 ATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC
 AATCCAAGACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC
 TGTGTATTTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTC
 GAGC (SEQ ID NO: 233).

[00473] В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 94:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG
 ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCG
 TCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCATTGGTAGTGATGGTAAGA
 CATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG
 ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTTC
 TGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC
 CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
 CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC
 GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTC
 CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA
 GAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTG

AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCA
TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC
CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC
AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA
GCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGA
CGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA
AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 234).

[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: 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.

[00475] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 238; SEQ ID NO: 239; и SEQ ID NO: 240, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 94.

[00476] Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 231,

кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91; полинуклеотида SEQ ID NO: 232, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 92; полинуклеотида SEQ ID NO: 233, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93; полинуклеотида SEQ ID NO: 234, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 94; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 235; SEQ ID NO: 236; и SEQ ID NO: 237) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 91 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 92; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 238; SEQ ID NO: 239; и SEQ ID NO: 240) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 93 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 94.

[00477] 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.

[00478] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab10 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab10, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab10 в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab11

[00479] 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: 101:

[00480] CAGGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTCCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTTATTATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCT
CTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT
TATGATTGTAGTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGT (SEQ ID NO: 241).

[00481] 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:

[00482] CAGGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTCCAGCTGTGGGAAGC
ACAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTTATTATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCT
CTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGT
TATGATTGTAGTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
AAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
AAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
242).

[00483] 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:

[00484] CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGAGGATCC

CTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCGACGTCACТААСТАТАТАТGCAATGG
 GTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTGTGAATGG
 TAAGAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGT
 CGACCACGGTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTAT
 TTCTGTGCCAGAGGGCGACATCTGGGGCCCAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGC
 (SEQ ID NO: 243).

[00485] 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:

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGAGGATCCCTGACACT
 CACCTGCACAGTCTCTGGAATCGACGTCACТААСТАТАТАТGCAATGGGTCCGCCA
 GGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTGTGAATGGTAAGAGAT
 ACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACG
 GTGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCC
 AGAGGGCGACATCTGGGGCCCAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAA
 GGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC
 GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGA
 ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAG
 GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGA
 CCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
 GAGCCCAAATCTTGTGACAAAАСТCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTC
 CTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC
 TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA
 GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC
 CGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTG
 CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCT
 CCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC
 AGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG
 ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA
 TGGGCAGCCGGAGAACAАСТACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT
 CCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC
 GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC
 CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 244).

[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: 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.

[00487] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 248; SEQ ID NO: 249; и SEQ ID NO: 250, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 104.

[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 к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 241, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 101; полинуклеотида SEQ ID NO: 242, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 102; полинуклеотида SEQ ID NO: 243, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103; полинуклеотида SEQ ID NO: 244, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 104; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 245; SEQ ID NO: 246; и SEQ ID NO: 247) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 101 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 102; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 248; SEQ ID NO: 249; и SEQ ID NO: 250) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 103 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 104.

[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 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.

[00490] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab11 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab11, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab11 в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab12

[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 варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111:

[00492] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTTACTATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTTAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGT
TATGATTGTAGTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATC
AAACGT (SEQ ID NO: 251).

[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: 112:

[00494] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
 AGAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTTACTATAACAACCTACCTAGCC
 TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
 CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
 CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGT
 TATGATTGTAGTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATC
 AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
 AAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
 AAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
 CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
 GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
 CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
 252).

[00495] 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: 113:

[00496] GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG
 GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACGTCACTAACTACTACATGCA
 ATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTGTGA
 ATGGTAAGAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC
 AATCCAAGACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC
 TGTGTATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTC
 GAGC (SEQ ID NO: 253).

[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: 114:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG
 ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGACGTCACTAACTACTACATGCAATGGGTCCG
 TCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTGTGAATGGTAAGA

GATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG
ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTTC
TGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC
CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG
GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTC
CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA
GAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG
AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCA
TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC
CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC
AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA
GCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGA
CGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA
AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 254).

[00498] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 255; SEQ ID NO: 256; и SEQ ID NO: 257, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 112.

[00499] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 258; SEQ ID NO: 259; и SEQ ID NO: 260, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности

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

[00500] Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 251, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111; полинуклеотида SEQ ID NO: 252, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 112; полинуклеотида SEQ ID NO: 253, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113; полинуклеотида SEQ ID NO: 254, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 114; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 255; SEQ ID NO: 256; и SEQ ID NO: 257) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 111 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 112; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 258; SEQ ID NO: 259; и SEQ ID NO: 260) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 113 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 114.

[00501] 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.

[00502] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab12 (например,

папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab12, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab12 в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или 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 Ab13

[00503] 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:

[00504] GCCATCGTGATGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGA
GACACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTGAGAGTCTTTATAATAACAACGCCTTG
GCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCGCCTGATCTATGATGCATCC
AAACTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAGTGGCGGTGGGTCTGGGACACAGTTC
ACTCTCACCATCAGTGGCGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTGGAGGC
TACAGAAGTGATAGTGTTGATGGTGTGCTTTCGCCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGT (SEQ ID NO: 261).

[00505] 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:

[00506] GCCATCGTGATGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGA
GACACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTGAGAGTCTTTATAATAACAACGCCTTG
GCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCGCCTGATCTATGATGCATCC
AAACTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAGTGGCGGTGGGTCTGGGACACAGTTC
ACTCTCACCATCAGTGGCGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTGGAGGC
TACAGAAGTGATAGTGTTGATGGTGTGCTTTCGCCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTC
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
AAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
AAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT

CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 262).

[00507] 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:

[00508] CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGAGGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCGACTTCAGTAGCAATGCAATGTGGTGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCATTTACAATGGTGTATGGCAGCACATACTACGCGAGCTGGGTGAATGGCCGATTCTCCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGA CTCTGCAACTGAATAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACGTATTATTGTGCGAGAGATCTTGACTTGTGGGGCCCGGGCACCCCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 263).

[00509] 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:

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGAGGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCGACTTCAGTAGCAATGCAATGTGGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCATTTACAATGGTGTATGGCAGCASCATACTACGCGAGCTGGGTGAATGGCCGATTCTCCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGA CTCTGCAACTGAATAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACGTATTATTGTGCGAGAGATCTTGACTTGTGGGGCCCGGGCACCCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA ACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCGTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC

CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGC
CCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
CACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGC
CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG
CAATGGGCAGCCGGAGAACAАCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACG
GCTCCTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG
AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAG
AGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 264).

[00510] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 265; SEQ ID NO: 266; и SEQ ID NO: 267, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 122.

[00511] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 268; SEQ ID NO: 269; и SEQ ID NO: 270, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 124.

[00512] Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 261, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 121; полинуклеотида SEQ ID NO: 262, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 122; полинуклеотида SEQ ID NO: 263, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123; полинуклеотида SEQ ID NO: 264,

кодирующей последовательности 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 варибельной 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 варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 123 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 124.

[00513] В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из полинуклеотидов, кодирующих Fab-фрагменты (антигенсвязывающие фрагменты), обладающие специфичностью связывания с CGRP. По отношению к антителу Ab13, полинуклеотиды, кодирующие полноразмерное антитело Ab13, включают или, в альтернативном случае, состоят из полинуклеотида SEQ ID NO: 262, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 122, и полинуклеотида SEQ ID NO: 264, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 124.

[00514] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab13 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab13, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab13 в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

Антитело Ab14

[00515] Настоящее изобретение также направлено на полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антител, обладающих специфичностью связывания с CGRP. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной

последовательности, кодирующей полипептидную последовательность варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131:

[00516] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAATGTTTACAATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTA CTGTCTGGGCAGT
TATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATC
AAACGT (SEQ ID NO: 271).

[00517] 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:

[00518] CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC
AGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAATGTTTACAATAACAACCTACCTAGCC
TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCACT
CTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTA CTGTCTGGGCAGT
TATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTGGAAATC
AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
AAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC
AAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:
272).

[00519] 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:

[00520] GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCA
ATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTAGTG
ATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC
AATCCAAGACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGC

TGTGTATTTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTC
GAGC (SEQ ID NO: 273).

[00521] В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды по изобретению включают или, в качестве альтернативы, состоят из следующей полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 134:

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAATCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCG
TCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCATTGGTAGTGATGGTAAGA
CATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG
ACCACGGTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTT
TGTAACCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC
CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG
GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTC
CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGA
GAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG
AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCA
TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC
CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC
AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA
GCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA
CGGCTCCTTCTTCTTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA
AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 274).

[00522] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 275; SEQ ID NO: 276; и SEQ ID NO: 277, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие

комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 132.

[00523] В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антитела, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одной или более полинуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 278; SEQ ID NO: 279; и SEQ ID NO: 280, соответствующих полинуклеотидам, кодирующим области, определяющие комплементарность (CDR, или гипервариабельные области) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 134.

[00524] Настоящее изобретение также рассматривает полинуклеотидные последовательности, включающие одну или более из полинуклеотидных последовательностей, кодирующих фрагменты антител, описанные здесь. В одном варианте воплощения настоящего изобретения полинуклеотиды, кодирующие фрагменты антител, обладающие специфичностью связывания к CGRP, включают или, в качестве альтернативы, состоят из одного, двух, трех или более, в том числе всех следующих полинуклеотидов, кодирующих фрагменты антител: полинуклеотида SEQ ID NO: 271, кодирующего последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131; полинуклеотида SEQ ID NO: 272, кодирующего последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 132; полинуклеотида SEQ ID NO: 273, кодирующего последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133; полинуклеотида SEQ ID NO: 274, кодирующего последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 134; полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 275; SEQ ID NO: 276; и SEQ ID NO: 277) последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 131 или последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 132; и полинуклеотидов, кодирующих области, определяющие комплементарность (SEQ ID NO: 278; SEQ ID NO: 279; и SEQ ID NO: 280) последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 133 или последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 134.

[00525] 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.

[00526] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения рассматривает указанные полинуклеотиды, внедренные в экспрессирующий вектор для экспрессии в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO, HEK 293, или системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей, например, дрожжей *Pichia*. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им. В одном варианте воплощения изобретения, описанном здесь (ниже), Fab-фрагменты можно получить путем ферментативного гидролиза Ab14 (например, папаином), после экспрессии указанных полноразмерных полинуклеотидов в подходящем хозяине. В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, например, Ab14, или их Fab-фрагменты можно продуцировать путем экспрессии полинуклеотидов Ab14 в клетках млекопитающих, например, клетках CHO, NSO или HEK 293, системах на основе клеток грибов, насекомых или микроорганизмов, например, клеток дрожжей (например, диплоидных дрожжей, например, диплоидных *Pichia*) и других штаммах дрожжей. Подходящие виды *Pichia* включают вид *Pichia pastoris*, но не ограничиваются им.

[00527] В одном варианте воплощения настоящее изобретение направлено на выделенный полинуклеотид, включающий полинуклеотид, кодирующий аминокислотную последовательность V_H антитела против CGRP, выбранную из SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103, 113, 123 или 133, или кодирующий ее вариант, где, по меньшей мере, один каркасный остаток (FR-остаток) замещен аминокислотой, присутствующей в соответствующем положении V_H -полипептида антитела кролика против CGRP, или путем консервативной аминокислотной замены.

[00528] В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение направлено на выделенный полинуклеотид, включающий полинуклеотидную последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность V_L антитела против CGRP 1, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121 или 131, или кодирующую ее вариант, где, по меньшей мере, один каркасный остаток (FR-остаток) замещен аминокислотой, присутствующей в соответствующем положении V_L -полипептида антитела кролика против CGRP, или путем консервативной аминокислотной замены.

[00529] В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение направлено на один или более из гетерологичных полинуклеотидов, включающих последовательность, кодирующую полипептиды, содержащиеся в SEQ ID NO:1 и SEQ ID NO:3; SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 13; SEQ ID NO:21 и SEQ ID NO:23; SEQ ID NO:31 и SEQ ID NO:33; SEQ ID

NO:41 и SEQ ID NO:43; SEQ ID NO:51 и SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:61 и SEQ ID NO:63; SEQ ID NO:71 и SEQ ID NO:73; SEQ ID NO:81 и SEQ ID NO:83; SEQ ID NO:91 и SEQ ID NO:93; SEQ ID NO:101 и SEQ ID NO:103; SEQ ID NO:111 и SEQ ID NO:113; SEQ ID NO:121 и SEQ ID NO: 123; или SEQ ID NO: 131 и SEQ ID NO:133.

[00530] В еще одном варианте воплощения настоящее изобретение направлено на выделенный полинуклеотид, экспрессирующий полипептид, содержащий, по меньшей мере, один CDR-полипептид, происходящий от антитела против CGRP, причем указанный экспрессированный полипептид сам по себе специфически связывает CGRP или специфически связывает CGRP при экспрессии в сочетании с еще одной полинуклеотидной последовательностью, экспрессирующей полипептид, содержащий, по меньшей мере, один CDR-полипептид, происходящий от антитела против CGRP, причем указанный, по меньшей мере, один CDR выбран из CDR, содержащихся в V_L - или V_H -полипептидах SEQ ID NO: 1, 3, 11, 13, 21, 23, 31, 33, 41, 43, 51, 53, 61, 63, 71, 73, 81, 83, 91, 93, 101, 103, 111, 113, 121, 123, 131 или SEQ ID NO:133.

[00531] Кроме того, рассматриваются клетки-хозяева и векторы, включающие указанные полинуклеотиды.

[00532] 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

[00533] В одном варианте воплощения настоящее изобретение рассматривает получение и выделение клональной популяции антиген-специфических В-клеток, которые можно использовать для выделения, по меньшей мере, одной клетки, специфичной по отношению к антигену CGRP, которую можно использовать для продукции моноклонального антитела против CGRP, специфичного к желательному антигену CGRP, или нуклеотидной последовательности, соответствующей такому антителу. Способы получения и выделения указанной клональной популяции антиген-специфических В-клеток изложены, например, в патентной публикации США № 2007/0269868 Carvalho-Jensen *et al.*, раскрытие которой полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки. Способы получения и выделения указанной клональной популяции антиген-

специфических В-клеток также описаны здесь в примерах. В данной области техники известны способы "обогащения" клеточной популяции по размеру или плотности. См., например, патент США 5627052. Эти этапы можно использовать в дополнение к обогащению популяции клеток по антигенной специфичности.

Способы гуманизации антител

[00534] 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

[00535] 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.

[00536] Другие способы получения антител хорошо известны специалистам в данной области техники. Например, способы получения химерных антител в настоящее время хорошо известны в данной области техники (см., например, патент США № 4816567 Cabilly *et al.*; Morrison *et al.*, P.N.A.S. USA, 81:8651-55 (1984); Neuberger, M.S. *et al.*, Nature, 314:268-270 (1985); Boulianne, G.L. *et al.*, Nature, 312:643-46 (1984), раскрытие каждого из которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки).

[00537] Аналогично, другие способы получения гуманизированных антител в настоящее время хорошо известны в данной области техники (см., например, патенты США № 5530101, 5585089, 5693762 и 6180370 Queen *et al.*; патенты США № 5225539 и 6548640 Winter; патенты США № 6054297, 6407213 и 6639055 Carter *et al.*; патент США № 6632927 Adair; Jones, P.T. *et al.*, Nature, 321:522-525 (1986); Reichmann, L., *et al.*, Nature, 332:323-327 (1988); Verhoeven, M, *et al.*, Science, 239:1534-36 (1988), раскрытие каждого из которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки).

[00538] 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.

[00539] 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.

[00540] 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.

[00541] Клетку-хозяина можно совместно трансфицировать двумя экспрессирующими векторами, описанными выше, причем первый экспрессирующий вектор содержит ДНК, кодирующую оперон и полипептид, происходящий от легкой цепи, а второй вектор содержит ДНК, кодирующую оперон и полипептид, происходящий от тяжелой цепи. Указанные два вектора содержат различные селективные маркеры, но предпочтительно достигают практически равной экспрессии полипептидов тяжелой и легкой цепей. В качестве альтернативы можно использовать единственный вектор, включающий ДНК, кодирующую полипептиды как тяжелой, так и легкой цепей. Кодированные последовательности тяжелой и легкой цепей могут содержать кДНК, геномную ДНК, или обе из них.

[00542] 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 НЕК293.

[00543] 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.

[00544] 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.

[00545] 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

[00546] Настоящее изобретение также включает скрининговый анализ, предназначенный для помощи при выявлении заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP, в особенности состояний, связанных со светобоязнью, например, мигрени, другой головной боли и болевых состояний, депрессии, биполярного расстройства, агорафобии и т.д. у пациентов, проявляющих симптомы светобоязни или заболевания или расстройства, ассоциированного с CGRP.

[00547] 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, особенно заболевания или расстройства, связанного со светобоязнью. Наличие CGRP или его повышенные уровни по сравнению с уровнями CGRP до заболевания в сопоставимом биологическом образце может быть благоприятным для диагностики заболевания или расстройства, ассоциированного с CGRP.

[00548] Еще один вариант воплощения настоящего изобретения обеспечивает диагностический или скрининговый анализ для помощи при диагностике заболеваний или

расстройств, ассоциированных с CGRP и светобоязнь 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.

[00549] 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.

[00550] 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, особенно заболеванием или расстройством, связанным со светобоязнью, 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.

[00551] 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.

[00552] 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 иммуноблоттинга. 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).

[00553] 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.

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

[00554] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, описанные здесь, или их фрагменты можно применять для облегчения или снижения симптомов или лечения или предотвращения заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP, особенно для лечения или профилактики светобоязни. В предпочтительном варианте воплощения показано, что антитела или фрагменты антител против CGRP эффективны (блокируют неблагоприятные побочные эффекты, связанные с избытком циркулирующего CGRP, в том числе поведение, связанное с отвращением к свету), в животной модели грызунов, раскрытой в Примере 8.

[00555] Антитела против CGRP, описанные здесь, или их фрагменты, а также комбинации также можно вводить в терапевтически эффективном количестве пациентам,

нуждающимся в лечении заболеваний и расстройств, ассоциированных с CGRP, для лечения или профилактики светобоязни, в виде фармацевтической композиции, как более подробно описано ниже.

[00556] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения описанные здесь антитела против CGRP или их фрагменты можно применять для облегчения или снижения симптомов, или лечения, или профилактики мигрени (с аурой или без нее), потери массы тела, рака или опухолей, ангиогенеза, связанного с раковым или опухолевым ростом, ангиогенеза, связанного с выживанием рака или опухоли, боли, гемиплегической мигрени, кластерных головных болей, мигренозной невралгии, хронических головных болей, головных болей напряжения, общей головной боли, мигрени без головной боли, мигрени с тошнотой и рвотой, "приливов", хронической пароксизмальной гемикрании, вторичных головных болей вследствие основной структурной проблемы в области головы или шеи, черепной невралгии, синусных головных болей (например, связанных с синуситом), и головных болей или мигрени, вызванных аллергией.

[00557] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, описанные здесь, или их фрагменты в комбинации со вторым агентом или без него можно применять для облегчения или снижения симптомов или лечения или предотвращения светобоязни, связанной со следующим неограничивающим списком заболеваний и расстройств: нейрогенной, невропатической или ноцицептической болью. Невропатическая боль может включать невралгию тройничного нерва, постгерпетическую невралгию, фантомную боль конечностей, фибромиалгию, менструальную боль, овариалгию, рефлекторную симпатическую дистрофию и нейрогенную боль, но не ограничивается ими. В других предпочтительных вариантах воплощения антитела против CGRP, описанные здесь, или их фрагменты в комбинации со вторым агентом или без него можно применять для облегчения или снижения симптомов или лечения или предотвращения светобоязни, связанной с болью при остеоартрите или ревматоидном артрите, болью в пояснице, диабетической невропатии, пояснично-крестцовом радикулите и другой невропатической болью.

[00558] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения описанные здесь антитела против CGRP или их фрагменты в комбинации со вторым агентом или без него можно применять для облегчения или снижения симптомов или лечения или предотвращения светобоязни, связанной со следующим неограничивающим списком заболеваний и расстройств: висцеральной болью, или, конкретнее, связанной с желудочно-пищеводным рефлюксом, диспепсией, синдромом раздраженного кишечника,

воспалительным заболеванием кишечника, болезнью Крона, илеитом, язвенным колитом, почечной коликой, дисменореей, циститом, менструальным периодом, родами, менопаузой, простатитом или панкреатитом.

Введение

[00559] В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела или фрагменты против CGRP, описанные здесь, или антитела или фрагменты против CGRP-R, а также комбинации указанных антител или фрагментов антител для лечения или профилактики светобоязни вводят субъекту в концентрации между приблизительно 0,1 и 100,0 мг/кг массы тела субъекта-реципиента. В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, описанные здесь, или их CGRP-связывающие фрагменты, а также комбинации указанных антител или фрагментов антител вводят субъекту в концентрации приблизительно 0,4 мг/кг массы тела субъекта-реципиента. В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, описанные здесь, или их CGRP-связывающие фрагменты, а также комбинации указанных антител или фрагментов антител вводят субъекту-реципиенту с частотой раз в двадцать шесть недель или менее, например, раз в шестнадцать недель или менее, раз в восемь недель или менее, раз в четыре недели или менее, раз в две недели или менее, раз в неделю или менее, или раз в день или менее.

[00560] Fab-фрагменты для лечения или профилактики светобоязни можно вводить раз в две недели или менее, раз в неделю или менее, раз в день или менее, несколько раз в день и/или раз в несколько часов. В одном варианте воплощения настоящего изобретения пациент получает Fab-фрагменты в количестве от 0,1 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.

[00561] Следует понимать, что концентрация антитела или Fab, вводимого данному пациенту для лечения или профилактики светобоязни, может быть больше или меньше, чем типичные вводимые концентрации, представленные выше в абзацах [0566] и [0567].

[00562] Специалист в данной области техники может экспериментально определить эффективную дозировку и частоту приема для лечения или профилактики светобоязни в рабочем порядке, например, руководствуясь настоящим раскрытием и информацией в Goodman, L. S., Gilman, A., Brunton, L. L., Lazo, J. S., & Parker, K. L. (2006). Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. New York: McGraw-Hill; Howland, R. D., Mycek, M. J., Harvey, R. A., Champe, P. C., & Mycek, M. J. (2006). Pharmacology. Lippincott's illustrated reviews. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; and Golan, D. E. (2008). Principles of pharmacology: the pathophysiologic basis of drug therapy. Philadelphia, Pa., [etc.]:

Lippincott Williams & Wilkins.

[00563] В еще одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, описанные здесь, или их CGRP-связывающие фрагменты, а также комбинации указанных антител или фрагментов антител для лечения или профилактики светобоязни вводят субъекту в фармацевтическом составе.

[00564] "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 инъекций, порошка, жидкости, геля, капель или других средств для введения.

[00565] В одном варианте воплощения настоящего изобретения антитела против CGRP, описанные здесь, или их CGRP-связывающие фрагменты, а также комбинации указанных антител или фрагментов антител для лечения или профилактики светобоязни можно необязательно вводить в комбинации с одним или более активных агентов. Такие активные агенты включают анальгетики, антигистаминные, жаропонижающие, противовоспалительные агенты, антибиотики, противовирусные и антицитокиновые 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, ацеметацин, 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, оксапрозин, оксикамы, оксифенбутазон, парекоксиб, феназон, фенилбутазон, пироксикам, пирпрофен, профены, проглуметацин, производные пиразолидина, рофекоксиб, салицилсалицилат, салициламид, салицилаты, вещество Р, сульфипиразон, сулиндак, супрофен, теноксикам, тиапрофеновую кислоту, толфенамовую кислоту, толметин и вальдекоксиб, но не ограничиваются ими.

[00566] 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.

[00567] 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, цiproфлоксацин, кларитромицин, клиндамицин, клоксациллин, 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.

[00568] 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.

[00569] В предпочтительных вариантах воплощения рассматриваемые антитела и фрагменты антител можно вводить в рамках терапевтической схемы, включающей соединения, обычно используемые для лечения мигрени, в том числе мигрени, связанной со светобоязнью. Примеры, приведенные здесь, включают анальгетики, например, НПВП. Примеры включают упомянутые выше НПВП, например, ибупрофен, напроксен, суматриптан, парацетамол/ацетаминофен, по отдельности или в комбинации с метоклопрамидом и кофеином.

[00570] Обычно применяют триптаны, например, суматриптан, как и эрготамины, например, эрготамин. Кроме того, можно применять кортикостероиды.

[00571] Кроме того, антимиетики могут помочь облегчить симптомы тошноты и помогают предотвратить рвоту, которая может снизить эффективность пероральных анальгетиков. Кроме того, некоторые противорвотные средства, например, метоклопрамид, являются прокинетиками и способствуют опорожнению желудка, которое часто нарушается во время эпизодов мигрени. Три комбинации противорвотных и обезболивающих препаратов, используемые при мигрени, включают: аспирин с метоклопрамидом; парацетамол/кодеин для обезболивания с буклизином в качестве противорвотного средства; и парацетамол/метоклопрамид.

[00572] "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.

[00573] 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.

[00574] 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.

[00575] 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, полиортоэферы, полимолочную

кислоту и сополимеры полимолочной и полигликолевой кислот (PLG). Многие способы изготовления таких составов известны специалистам в данной области техники.

[00576] В каждом из упомянутых вариантов воплощения соединения можно вводить в различных лекарственных формах. Рассматриваются любые биологически приемлемые лекарственные формы, известные специалистам в данной области техники, и их комбинации. Примеры таких лекарственных форм включают, без ограничения, восстанавливаемые порошки, эликсиры, жидкости, растворы, суспензии, эмульсии, порошки, гранулы, частицы, микрочастицы, диспергируемые гранулы, облатки, препараты для ингаляции, аэрозоли для ингаляции, пластыри, препараты частиц для ингаляции, импланты, депо-импланты, препараты для инъекций (в том числе подкожных, внутримышечных, внутривенных и внутрикожных), вливаний, и их комбинаций.

[00577] Вышуканное описание различных иллюстрированных вариантов воплощения настоящего изобретения не следует считать исчерпывающим или жестко ограничивающим настоящее изобретение раскрытой конкретной формой. Несмотря на то, что здесь описаны конкретные варианты воплощения и примеры настоящего изобретения в целях иллюстрации, специалисты в данной области техники должны понимать, что возможны различные эквивалентные модификации, входящие в рамки изобретения. Информацию об изобретении, представленную здесь, можно применять для других целей, отличающихся от описанных выше примеров.

[00578] 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.

[00579] 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.

[00580] 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.

[00581] 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.

[00582] 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.

[00583] 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.

[00584] 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.

[00585] 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

[00586] За счет применения протокола отбора антител, описанного здесь, можно получить расширенную панель антител.

Стратегия иммунизации

[00587] Кроликов иммунизировали CGRP α человека (American Peptides, Саннивейл, штат Калифорния, США, и Vachem, 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

[00588] С целью выявления и описания характеристик антител, связывающихся с CGRP α человека, растворы антител тестировали с помощью твердофазного ИФА. Вкратце, планшеты, покрытые нейтравидином (Thermo Scientific), покрывали CGRP α человека, биотинилированным по N-концу (50 мкл на лунку, 1 мкг/мл), разбавленным буфером для твердофазного ИФА (0,5% желатина рыбьей кожи в PBS, pH 7,4) в течение приблизительно 1 часа при комнатной температуре или, в качестве альтернативы, в течение ночи при 4 °С. 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 одного 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 ТМВ 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)

[00589] 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 А, Meso Scale

Discovery) в 96-луночном круглодонном полистирольном планшете (Costar). В указанный планшет добавляли CGRP α человека (конечная концентрация 10 нг/мл), разбавленный буфером для анализа MSD, и инкубировали в течение часа при 37 С. 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 α 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 одного 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

[00590] После установления приемлемых титров кролика(ов) умерщвляли. Селезенку, лимфатические узлы и цельную кровь собирали и обрабатывали следующим образом:

[00591] 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 °С в камере медленной заморозки в течение 24 часов и хранили в жидком азоте.

[00592] 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

[00593] 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

[00594] Клетки предварительно смешивали с биотинилированным CGRP α человека следующим образом. Клетки повторно промывали и ресуспендировали из расчета 1E07 клеток/80 мкл среды. Биотинилированный CGRP α человека добавляли к суспензии клеток в конечной концентрации 5 мкг/мл и инкубировали в течение 30 минут при 4 °С. Несвязанный биотинилированный CGRP α человека удаляли посредством двух 10-мл промывок с использованием PBF [PBS, не содержащий Ca/Mg (Hyclone), 2 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), 0,5% бычьего сывороточного альбумина (BCA) (Sigma - без биотина)]. После второй промывки клетки ресуспендировали из расчета 1E07 клеток/80 мкл PBF и добавляли к суспензии клеток 20 мкл стрептавидиновых гранул MACS® (Miltenyi Biotec, Оберн, штат Калифорния, США) на 10E7 клеток. Клетки и гранулы инкубировали при 4°C в течение 15 минут и однократно промывали 2 мл PBF на 10E7 клеток.

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

[00595] Биотинилированный CGRP α 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 1Е7 клеток, затем инкубировали смесь при 4°C в течение 30 мин и однократно промывали 10 мл PBF.

[00596] Как для протокола а), так и б) применимо следующее: После промывки клетки ресуспендировали в 500 мкл PBF и откладывали. Колонку MACS® MS (Miltenyi Biotec, Оберн, штат Калифорния, США) предварительно промывали 500 мл PBF на магнитной подставке (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.

[00597] Для получения информации об уровнях диссеминации 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)

[00598] 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

[00599] 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

[00600] Планшеты, содержавшие интересующие лунки, извлекали из холодильника при $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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.

[00601] 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ и 4% CO₂ в темноте.

[00602] 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 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$.

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

[00603] 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

[00604] 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

[00605] 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 (ТМВ-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.

[00606] 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

[00607] 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 нейроэпителиомы 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.

[00608] 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).

[00609] 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

[00610] 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 mM 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.

[00611] 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*

[00612] 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*

[00613] 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.

[00614] 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 °С и 300 об/мин. Затем 10% инокулят добавляли в резервуары Labfors с рабочим объемом 2,5 л, содержащие 1 л стерильной ростовой среды. Ростовая среда состояла из следующих питательных веществ: сульфат калия 18,2 г/л, одноосновный фосфат аммония 36,4 г/л, двухосновный фосфат калия 12,8 г/л, гептагидрат сульфата магния 3,72 г/л, дигидрат цитрата натрия 10 г/л, глицерин 40 г/л, дрожжевой экстракт 30 г/л, микроэлементы РТМ1 4,35 мл/л и пеногаситель antifoam 204 1,67 мл/л. Раствор микроэлементов РТМ1 состоял из следующих компонентов: пентагидрат сульфата меди 6 г/л, иодид натрия 0,08 г/л, гидрат сульфата марганца 3 г/л, дигидрат молибдата натрия 0,2 г/л, борная кислота 0,02 г/л, хлорид кобальта 0,5 г/л, хлорид цинка 20 г/л, гептагидрат сульфата железа (II) 65 г/л, биотин 0,2 г/л и серная кислота 5 мл/л.

[00615] Параметры управления процессом в биореакторе устанавливали следующим образом: Перемешивание 1000 об/мин, воздушный поток 1,35 стандартных литров в минуту, температура 28°C, рН поддерживали на уровне шести с помощью гидроксида аммония. Дополнительную подачу кислорода не осуществляли.

[00616] 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 РТМ1 12 мл/л. Для получения полноразмерных Ab6 и Ab14 в питательную среду также добавляли дигидрат цитрата натрия (0,5 г/л). Общее время ферментации составляло приблизительно 90 часов.

Пример 5 *Способы гуманизации антител*

[00617] Способы гуманизации антител были описаны ранее в опубликованном патенте США № 7935340, раскрытие которого полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых случаях требовалось определение необходимости дополнительных остатков каркасных областей кролика для поддержания активности. В некоторых случаях для минимизации потерь сродства или активности гуманизованных антител требовалось сохранить некоторые критические остатки каркасных областей кролика. В этих случаях для получения желательной активности было необходимо вновь заменить одну или несколько аминокислот каркасной области из последовательностей эмбрионального типа человека на исходные аминокислоты кролика. Указанные изменения определяли экспериментально с целью идентификации остатков последовательности кролика, необходимых для сохранения сродства и активности. Они располагались в конце гуманизованной аминокислотной последовательности переменчивой области тяжелой и легкой цепи.

Пример 6 *Ингибирование связывания CGRP с его клеточным рецептором*

[00618] 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 .

[00619] 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

[00620] 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 транзиторный 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)).

[00621] 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 O-кольца путем выявления двух областей с одинаково низким потоком. На

выбранные области помещали два резиновых O-кольца (диаметром ~1 см) и выполняли исходное сканирование. Непосредственно после завершения сканирования в области каждого из двух O-колец наносили 1 мг капсаицина в 5 мкл раствора этанол: ацетон (1:1). Допплеровское 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.

[00622] Для тестирования способности рекомбинантно экспрессируемых антител ингибировать связывание CGRP с его клеточным рецептором выполняли анализ связывания радиоактивного лиганда, как описано ранее.

[00623] Результаты: Фигуры 39 и 40 демонстрируют, что антитела Ab3 и Ab6 против CGRP снижали расширение сосудов в указанной модели после введения капсаицина.

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

[00624] Как обсуждалось выше, одним из признаков мигрени является светобоязнь или повышенная чувствительность к свету [Mulleners et al, Headache 41: 31-39 (2001); Recober et al, J. Neuroscience 29:8798:8804 (2009)]. Кроме того, известно, что люди, страдающие мигренью, в отличие от людей, не страдающих мигренью, чувствительны к CGRP-индуцированной головной боли [обзор в Neurology 22:241-246 (2009)]. CGRP связывается с рецептором, сопряженным с G-белком, под названием CLR (кальцитонин-подобный рецептор), который действует одновременно с белком 1, модифицирующим активность рецептора (RAMP1), при опосредовании связывания и сигнального пути CGRP. Активность CGRP *in vitro* сильно повышалась за счет сверхэкспрессии субъединицы RAMP1 рецептора CGRP [(J. Neurosci. 27:2693-2703 (2007)]. Для изучения поведения, связанного с отвращением к свету у мышей, разработали модель трансгенной мыши нестин/RAMP1 человека [Recober et al, J. Neuroscience 29: 8798-8804 (2009); Russo et al, Mol. Cell. Pharmacol., 1:264-270 (2009)]. У указанных мышей при воздействии CGRP присутствовали симптомы, связанные с мигренью, в частности, отвращение к свету (там же). Данный протокол подробно описан ниже.

[00625] Для тестирования способности антител против CGRP блокировать CGRP-индуцированное отвращение к свету или светобоязнь мышей содержали в стандартных условиях в группах по 2-5 мышей на клетку при 12-часовом световом цикле (свет включали в 5:00 CST)/6:00 CDT и выключали в 17:00 CST/18:00 CDT) и неограниченном доступе к воде и пище. Мыши, используемые в исследованиях, состояли из колоний мышей генотипа *нестин/hRAMP1*, содержавших два трансгенных аллеля Tg(Nes-

cre)1Kln/J и Tg(RAMP1) (B6;SjL-Tg(Nes-cre)1Kln Tg(RAMP1). Nes-cre внедряли в генотип указанных мышей с помощью интеркросса с участием мышей, полученных из The Jackson Laboratory (номенклатурный номер 003771) биологической продуктивности мышей на генетическом фоне B6.

[00626] Контрольные мыши, используемые в протоколе, являлись однопаметными нетрансгенными мышами или трансгенными по одному гену (не экспрессирующими hRAMP1) мышами, содержащими один из трансгенов: нестин-cre или Cx1-GFP-hRAMP1. Исходную колонию поддерживали путем обратного скрещивания мышей CX1-GFP-hRAMP1 с нетрансгенными 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.

[00627] 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.)

[00628] 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.

[00629] 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. В альтернативном случае более низкие интенсивности света достигались с помощью слоев вощенной бумаги, фильтрующих свет, что приводило к интенсивности ~55 лк.

[00630] Используемые инжекторы изготавливали вручную, вставляя зачищенную иглу 30 калибра x ½" в радиопрозрачную полиэтиленовую трубку (внутренний диаметр 0,38 мм; наружный диаметр 1,09 мм). При использовании трубки, описанной выше, над иглой располагали пробку (~1 см в длину), оставляя примерно 2,5 мм скоса непокрытым. Указанные инжекторы подсоединяли к 10-мкл шприцу Hamilton.

[00631] Мышам вводили 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.

[00632] Мышам вводили одно из антител против CGRP, раскрытых здесь (Ab3), среду-носитель или контрольное антитело, которые хранили до введения при 4 °C. В данном протоколе до введения CGRP, т.е. приблизительно за 24 часов до тестирования, мышей взвешивали и затем вводили внутривентральную (в/б) инъекцию: среды-носителя, контрольного антитела, 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.

[00633] После акклиматизации каждую мышь помещали в индукционную камеру и

вводили 3,5% изофлуран. После анестезии мышь переводили на подачу 3,5% изофлурана через нос, так что она оставалась под наркозом во время инъекции. После введения препарата с использованием 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.

[00634] 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.

[00635] 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. После 30-минутного восстановления осуществляли тестирование. Каждую мышь помещали вдоль задней стенки (самой дальней от отверстия между двумя зонами) в освещенной зоне примерно в центре. Данное действие вызывало начало регистрации. Одновременно тестировали до шести мышей (одну мышь на камеру). Во время тестирования стеллаж с камерой задвигали в шкаф и закрывали дверь. Программное обеспечение регистрировало движения мыши в течение 20 минут. После завершения регистрации каждую мышь удаляли из камеры и вновь помещали в домашнюю клетку для транспортировки обратно в виварий.

[00636] Результаты

[00637] Используя указанный протокол, протестировали антитело против CGRP, разработанное Alder Biopharmaceuticals (Ab3), с целью определения его потенциальной пригодности для лечения мигрени, особенно хронической мигрени у человека и, конкретнее, для лечения или профилактики CGRP-ассоциированной светобоязни. Результаты указанных исследований показаны на Фигуре 41 и Фигуре 42. Фигура 41 содержит данные сравнения действия ICV-инъекции CGRP у мышей, трансгенных по hRAMP1, и контрольных однопометных мышей. Данные показывают, что введение CGRP

приводило к снижению времени светового поведения у трансгенных по hRAMP1 мышей по сравнению с одноплетными контрольными особями.

[00638] Фигура 42 содержит данные сравнения действия системной (в/б) инъекции антитела против CGRP (Ab3) в среде-носителе, только среды-носителя, и контрольного антитела в среде-носителе мышам *нестин/RAMP1*, которым внутрибрюшинно вводили указанные вещества в дозе 30 мг/кг приблизительно за 24 часа до введения CGRP. Данные в левой части графика представляют общее время на свету (в секундах) в течение первых 10 минут, а данные на правой стороне графика представляют общее время на свету (в секундах), измеренное в течение первых 20 минут после инъекции CGRP (ICV), и в периоде восстановления. Интенсивность света в освещенной зоне составляла примерно 1×10^3 лк. Данные показывают, что мыши, получавшие антитело против CGRP Ab3 согласно настоящему изобретению, характеризовались статистически значимым увеличением времени, проводимого на свету, по сравнению с мышами, получавшими контроль.

[00639] Указанные результаты означают, что Ab3 ингибировало CGRP-ассоциированную светобоязнь или отвращение к свету и должно быть пригодно для лечения мигрени или других расстройств, сопровождающихся светобоязнью, особенно светобоязнью, связанной с CGRP. На основании этого предполагается, что другие антитела против CGRP, включая другие антитела, раскрытые здесь, могут вести себя аналогично. Указанные результаты также означают, что рассматриваемый анализ поведения, связанного с отвращением к свету, можно применять для оценки потенциальной терапевтической эффективности (способности противодействовать эффектам CGRP *in vivo*) кандидатов-антител и фрагментов антител против CGRP. Неожиданным и непредвиденным оказалось то, что крупный полипептид, например, антитело против CGRP, проходил через гематоэнцефалический барьер и ингибировал светобоязнь или отвращение к свету.

[00640] Результаты показывают, что избыток CGRP, который вызывает поведение, связанное с отвращением к свету, у мышей, уменьшался при системном введении антитела против CGRP, что указывает на способность указанного антитела связывать достаточное количество циркулирующего CGRP для противодействия поведению, связанному с отвращением к свету. Указанные результаты показывают, что указанное антитело против CGRP могло проходить через гематоэнцефалический барьер и тем самым ингибировать неврологические эффекты CGRP, в частности, светобоязнь и боль, связанные с мигренью.

[00641] Указанные результаты являются первой демонстрацией того, что рассматриваемый анализ поведения животного, связанного с отвращением к свету, можно

применять для оценки терапевтической эффективности полипептида, например, антитела или фрагмента антитела против CGRP. Кроме того, указанные результаты показывают, что указанная животная модель потенциально пригодна для определения эффективной дозировки кандидата-антитела или фрагмента антитела против CGRP, эффективных способов введения, а также подходящей схемы приема.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ ингибирования светобоязни или отвращения к свету или предотвращения возникновения светобоязни или отвращения к свету у субъекта, включающий введение эффективного количества антитела или фрагмента антитела против пептида, связанного с геном кальцитонина человека (CGRP), выбранных из

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

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

(iii) включающих переменную область легкой цепи (V_L), содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO: 25, CDR2 последовательности SEQ ID NO: 26 и CDR3 последовательности SEQ ID NO: 27, и переменную область тяжелой цепи (V_H), содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO: 28, CDR2 последовательности SEQ ID NO: 29, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:30;

(iv) включающих переменную область легкой цепи (V_L), содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO: 35, CDR2 последовательности SEQ ID NO: 36 и CDR3 последовательности SEQ ID NO: 37, и переменную область тяжелой цепи (V_H), содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO: 38, CDR2 последовательности SEQ ID NO: 39, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:40;

(v) включающих переменную область легкой цепи (V_L), содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO: 45, CDR2 последовательности SEQ ID NO: 46 и CDR3 последовательности SEQ ID NO: 47, и переменную область тяжелой цепи (V_H), содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO: 48, CDR2 последовательности SEQ ID NO: 49, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:50;

(vi) включающих переменную область легкой цепи (V_L), содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO: 65, CDR2 последовательности SEQ ID NO: 66 и CDR3 последовательности SEQ ID NO: 67, и переменную область тяжелой цепи (V_H), содержащую CDR1 последовательности SEQ ID NO: 68, CDR2 последовательности SEQ

ID NO: 139, и CDR3 последовательности SEQ ID NO:140.

2. Способ по п. 1, где светобоязнь или отвращения к свету вызвано мигренью, головной болью, приливами, хронической пароксизмальной гемикранией, или черепной невралгией.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

12. Способ по любому одному из пп. 1-6, где указанное антитело или фрагмент антитела выбраны из:

(i) включающих V_H -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 3, и V_L -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 1;

(ii) включающих V_H -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 13, и V_L -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 11;

(iii) включающих V_H -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 23, и V_L -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 21

(iv) включающих V_H -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 33, и V_L -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 31;

(v) включающих V_H -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 43, и V_L -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 41;

(vi) включающих V_H -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 63, и V_L -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 61;

(vii) включающих V_H -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 73, и V_L -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 71;

(viii) включающих V_H -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 83, и V_L -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID

NO: 81;

(ix) включающих V_H -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 93, и V_L -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 91;

(x) включающих V_H -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 103, и V_L -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 101;

(xi) включающих V_H -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 113, и V_L -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 111;

(xii) включающих V_H -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 123, и V_L -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 121;

(xiii) включающих V_H -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 133, и V_L -полипептид последовательности, которая обладает по меньшей мере 90%-ной идентичностью SEQ ID NO: 131.

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

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

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

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

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

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

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

$5 \times 10^{-6} \text{ c}^{-1}$, 10^{-6} c^{-1} , $5 \times 10^{-7} \text{ c}^{-1}$ или 10^{-7} c^{-1} .

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

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

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

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

24. Способ по любому из пп.1-6, где указанное антитело или фрагмент антитела выбраны из:

(i) включающих полипептидную последовательность V_H цепи SEQ ID NO: 3; и полипептидную последовательность V_L цепи SEQ ID NO: 1;

(ii) включающих полипептидную последовательность V_H цепи SEQ ID NO: 13; и полипептидную последовательность V_L цепи SEQ ID NO: 11;

(iii) включающих полипептидную последовательность V_H цепи SEQ ID NO: 23; и полипептидную последовательность V_L цепи SEQ ID NO: 21;

(iv) включающих полипептидную последовательность V_H цепи SEQ ID NO: 33; и полипептидную последовательность V_L цепи SEQ ID NO: 31;

(v) включающих полипептидную последовательность V_H цепи SEQ ID NO: 43; и полипептидную последовательность V_L цепи SEQ ID NO: 41;

(vi) включающих полипептидную последовательность V_H цепи SEQ ID NO: 63; и полипептидную последовательность V_L цепи SEQ ID NO: 61;

(vii) включающих полипептидную последовательность V_H цепи SEQ ID NO: 73; и полипептидную последовательность V_L цепи SEQ ID NO: 71;

(viii) включающих полипептидную последовательность V_H цепи SEQ ID NO: 83; и полипептидную последовательность V_L цепи SEQ ID NO: 81;

(ix) включающих полипептидную последовательность V_H цепи SEQ ID NO: 93; и полипептидную последовательность V_L цепи SEQ ID NO: 91;

(x) включающих полипептидную последовательность V_H цепи SEQ ID NO: 103; и полипептидную последовательность V_L цепи SEQ ID NO: 101;

(xi) включающих полипептидную последовательность V_H цепи SEQ ID NO: 113; и полипептидную последовательность V_L цепи SEQ ID NO: 111;

(xii) включающих полипептидную последовательность V_H цепи SEQ ID NO: 123; и полипептидную последовательность V_L цепи SEQ ID NO: 121;

(xiii) включающих полипептидную последовательность V_H цепи SEQ ID NO: 133; и полипептидную последовательность V_L цепи SEQ ID NO: 131.

25. Способ по любому из пунктов 1-6, где указанное антитело или фрагмент антитела выбраны из:

(i) включающих полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 2 и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 4;

(ii) включающих полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 12 и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 14;

(iii) включающих полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 22 и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 24;

(iv) включающих полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 32 и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 34;

(v) включающих полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 42 и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 44;

(vi) включающих полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 62 и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 64;

(vii) включающих полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 72 и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 74;

(viii) включающих полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 82 и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 84;

(ix) включающих полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 92 и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 94;

(x) включающих полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 102 и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 104;

(xi) включающих полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 112 и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 114;

(xii) включающих полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 122 и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 124;

(xiii) включающих полипептидную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 132 и полипептидную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 134.

26. Способ по п.12, где указанное антитело или фрагмент антитела выбраны из:

(i) включающих полипептидную последовательность V_H цепи, которая обладает по меньшей мере 95%-ной идентичностью с SEQ ID NO: 3; и полипептидную

меньшей мере 95%-ной идентичностью с SEQ ID NO: 103; и полипептидную последовательность V_L цепи, которая обладает по меньшей мере 95%-ной идентичностью с SEQ ID NO: 101;

(xi) включающих полипептидную последовательность V_H цепи, которая обладает по меньшей мере 95%-ной идентичностью с SEQ ID NO: 113; и полипептидную последовательность V_L цепи, которая обладает по меньшей мере 95%-ной идентичностью с SEQ ID NO: 111;

(xii) включающих полипептидную последовательность V_H цепи, которая обладает по меньшей мере 95%-ной идентичностью с SEQ ID NO: 123; и полипептидную последовательность V_L цепи, которая обладает по меньшей мере 95%-ной идентичностью с SEQ ID NO: 121;

(xiii) включающих полипептидную последовательность V_H цепи, которая обладает по меньшей мере 95%-ной идентичностью с SEQ ID NO: 133; и полипептидную последовательность V_L цепи, которая обладает по меньшей мере 95%-ной идентичностью с SEQ ID NO: 131.

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

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

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

30. Способ по п.29, который дополнительно включает введение активного обезболивающего агента, выбранного из дигидроэрготамина, опиоидов, 2-арилпропионовой кислоты, ацеклофенака, ацетата, ацетилсалициловой кислоты (аспирина), алклофенака, альминопрофена, амоксицилина, ампиона, арилалкановой кислоты, азапропазона, бенорилата, беноксапрофена, бромфенака, карпрофена, целекоксиба, холинсалицилата магния, клофезона, ингибиторов COX-2, дексипрофена, декскетопрофена, диклофенака, дифлунизала, дроксикама, этензамида, этодолака,

эторикоксиба, физаламина, фенамовой кислоты, фенбуфена, фенопрофена, флуфенамовой кислоты, флуноксапрофена, флурбипрофена, ибупрофена, ибупроксама, индометацина, индопрофена, кебузона, кетопрофена, кеторолака, лорноксикама, локсопрофена, люмиракоксиба, магния салицилата, меклофенамовой кислоты, мефенамовой кислоты, мелоксикама, метамизола, метилсалицилата, мофебутазона, набуметона, напроксена, N-арилантраниловой кислоты, фактора роста нервов (NGF), оксаметацина, оксапрозина, оксикама, оксифенбутазона, парекоксиба, феназона, фенилбутазона, пироксикама, пирпрофена, профена, проглуметацина, производных пиразолидина, рофекоксиба, салицилсалицилата, салициламида, салицилатов, вещества P, сульфинпиразона, сулиндака, супрофена, теноксикама, тиапрофеновой кислоты, толфенамовой кислоты, толметина и вальдекоксиба.

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

32. Способ по п.29, который дополнительно включает введение активного агента-антибиотика, выбранного из амикацина, аминогликозидов, амоксициллина, ампициллина, ансамицинов, арсфенамина, азитромицина, азлоциллина, азтреонама, бацитрацина, карбацефема, карбапенемов, карбенициллина, цефаклора, цефадроксила, цефалексина, цефалотина, цефамандола, цефазолина, цефдинира, цефдиторена, цефепима, цефиксима, цефоперазона, цефотаксима, цефокситина, цефподоксима, цефпрозила, цефтазидима, цефтибутена, цефтизоксима, цефтобипрола, цефтриаксона, цефуроксима, цефалоспоринов, хлорамфеникола, циластатина, ципрофлоксацина, кларитромицина, клиндамицина, клоксациллина, колистина, ко-тримоксазола, далфопристина, демеклоциклина, диклоксациллина, диритромицина, дорипенема, доксициклина, эноксацина, эртапенема, эритромицина, этамбутола, флуклоксациллина, фосфомицина, фуразолидона, фузидиевой кислоты, гатифлоксацина, гелданамицина, гентамицина, гликопептидов, гербимицина, имипенема, изониазида, канамицина, левофлоксацина, линкомицина, линезолида, ломефлоксацина, лоракарбефа, макролидов, мафенида, меропенема, метициллина, метронидазола, мезлоциллина, миноциклина, монобактамов, моксифлоксацина, мупироцина, нафциллина, неомицина, нетилмицина, нитрофурантоина, норфлоксацина, офлоксацина, оксациллина, окситетрациклина, паромомицина,

пенициллина, пенициллинов, пиперациллина, платензимицина, полимиксина В, полипептидов, пронтозила, пиразинамида, хинолонов, хинупристина, рифампицина, рифампина, рокситромицина, спектиномицина, стрептомицина, сульфацида, сульфаметизола, сульфаниламида, сульфасалазина, сульфисоксазола, сульфонамидов, тейкопланина, телитромицина, тетрациклина, тетрациклинов, тикарциллина, тинидазола, тобрамицина, триметоприма, триметоприм-сульфаметоксазола, тролеандомицин, тровафлоксацина и ванкомицина.

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

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

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

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

37. Способ по любому одному из п.п.1-6, который дополнительно включает введение комбинации активных агентов, выбранной из аспирина с метоклопрамидом, парацетамола с кодеином и буклизинном, и парацетамола с метоклопрамидом.

Ab1Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab1 (химера).

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRASSTTVDLKMTS
 LTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
 LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 4)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab1 (химера).

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRASSTTVDLKMTS
 LTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSS (SEQ ID NO: 3)

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

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRASSTTVDLKMTS
 LTTEDTATYFCARG***DL***WGPGLVTVSS (SEQ ID NOS. 8, 9, 10. соответственно)

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

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGACTCG
 ACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTA
 ATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGCCTCGTCGACCACGGTGGATCTGA
 AAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTCTGTGCCAGAGGGG***ACAAC***TGGGGCCAGGCACCCCTCGT
 CACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 143)

Фиг. 1

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab1 (химера).

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGACTCG
 ACCTCAGTAGCTACTACATGC AATGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTA
 ATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGCCTCGTCGACCACGGTGGATCTGA
 AAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACCCTCG
 TCACCGTCTCGAGCGCC TCCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCC TCCAAGAGCACCTCTGGGGGCAC
 AGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAG
 CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCC TACGACGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC
 AGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC
 AAATCTTGTGACAAA ACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCC
 CCCC AAAACCC AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAG
 ACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA AAGCCGCGGGAGGAGCAG
 TACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
 AAGGTCTCCAACA AAGCCCTCCAGCCCCC ATCGAGAAAACCATCTCCA AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG
 GTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACC TGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC
 CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTCTGGACT
 CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC
 CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO. 144)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab1 (химера).

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTQFTLTISDLECAD
 AATYYCLGSYDCSSGDC FVFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNFPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKIDSTYSLSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO. 2)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab1 (химера).

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTQFTLTISDLECAD
 AATYYCLGSYDCSSGDC FVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO. 1)

Фиг. 1 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

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

QVLQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYDNNYLAWYQOKPGQPPKQLIYSTSTLASHGVSSRFKGS^{**SGT**}QFTLTISDLECA
DAATYYCIGSI^{DCSSGDCFF}FGGGTEVVVKR (SEQ ID NOS: 5, 6, 7, (соответственно))

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

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGT^{**TT**}TATGATAACAAC^{TACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTAC}
^{ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTC}ACTCTCACCATCAGCGAC
CTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGITATGATTGTAGTAGTGGTGAITGTTTTGTTTTTCGGCGGAG
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT (SEQ ID NO: 141)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab1 (химера).

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGT^{**TT**}TATGATAACAAC^{TACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACAT}
^{CCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTC}ACTCTCACCATCAGCGACCT
GGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTATGATTGTAGTAGTGGTGAITGTTTTGTTTTTCGGCGGAG
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATC
TGGA^{**ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGT**}GGAAGGTGGATAACGCC
CTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTG
ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC
ACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 142)

Фиг. 1 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab2

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
 HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
 MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
 PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 14)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab2 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 13)

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGD WGQGLVTVSS (SEQ ID NOS: 18, 19, 20, соответственно)

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

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAC
 TCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCAATTGGTA
 TCAATGATAACATACTACGCGAGCTGGGCGA AAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
 ATCTTCAAATGAACAGCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGG ACATCTGGGGCCAAGGGAC
 CCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 153)

Фиг. 2

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

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAC
 TCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTGGAGTCATTGGTA
 TCAATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
 ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
 CCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
 GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAC TCAGGCGCCCT
 GACCAGCGGGCTGCACACCTTCCC GGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
 TCCAGCAGCTTGGGCAACCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
 GAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
 TCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
 CGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGG
 AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCC TGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
 AGTGCAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCCAGCCCC ATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAAC
 CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
 TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
 TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
 ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
 NO: 154)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab2 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 VATYYCLGSYDCSSGDC FVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
 ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKY YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12)

Белковая последовательность переменной области легкой цепи Ab2 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 VATYYCLGSYDCSSGDC FVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 11)

Фиг. 2 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

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

QVL TQSPSSL SASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQOKPGKVPKQLIYSTSLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCIGSIYDCSSGDCITFGGGGTKVEIKR (SEQ ID NOS: 15, 16, 17, соответственно)

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

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCGCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTAC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCAGGCAGTTATGATTGTAGTAGTGGTGGATTGTTTGTTCGGCGGAG
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 151)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab2 (гуманизованная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCGCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
GTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCAGGCAGTTATGATTGTAGTAGTGGTGGATTGTTTGTTCGGCGGAGG
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCAACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG (SEQ ID NO: 152)

Ab3

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
 HTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
 MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
 PIEKTISKAKGQPREPOVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVTFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 24)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab3 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 23)

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NOS: 28, 29, 30, соответственно)

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

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAC
 TCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCAATTGGTA
 TCAATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
 ATCTTCAAATGAACAGCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGAC
 CCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 163)

Фиг. 3

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

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAC
 TCGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTTGGTA
 TCAATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
 ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
 CCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
 GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACTCAGGCGCCCT
 GACCAGCGGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
 TCCAGCAGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGAGAGTT
 GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
 TCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
 CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG
 AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
 AGTGCAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
 CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
 TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
 TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
 ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
 NO: 164)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab3 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 VATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
 ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 22)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab3 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 VATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 21)

Фиг. 3 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

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

QVLTQSPSSLSASVGRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCIGSDYDCSSGDCFTFGGGGTKVEIKR (SEQ ID NOS: 25, 26, 27, соответственно)

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

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTAC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTAGTAGTGGTGGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAG
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 161)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab3 (гуманизированная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
GTGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTAGTAGTGGTGGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGG
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCIGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 162)

Фиг. 3 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab4Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab4 (химера).

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCSVSGIDLSGYYMNWVRQAPGKGLEWIGVIGINGATYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTS
 LTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
 LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
 TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
 QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO. 34)

Белковая последовательность вариательной области тяжелой цепи Ab4 (химера).

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCSVSGIDLSGYYMNWVRQAPGKGLEWIGVIGINGATYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTS
 LTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSS (SEQ ID NO. 33)

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

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCSVSGIDLSGYYMNWVRQAPGKGLEWIGVIGINGATYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTS
 LTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSS (SEQ ID NOS: 38, 39, 40, соответственно)

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

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGTTCCGTCTCTGGCATCG
 ACCTCAGTGGCTACTACATGAAC TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATT
 AATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTG
 AAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCGGGCACCCTC
 GTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO. 173)

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab4 (химера).

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGTTCCGTCCTGGCATCG
 ACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTA
 ATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGA
 AAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCGGGCACCCCTCG
 TCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGGGCAC
 AGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAG
 CGGCCTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC
 AGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC
 AAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCC
 CCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAG
 ACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGGAGCAG
 TACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
 AAGGTC'TCCAACAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG
 GTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC
 CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTCTGGACT
 CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC
 CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO. 174)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab4 (химера).

QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGQPPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCND
 AAAYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDYSLSSLTILSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO. 32)

Белковая последовательность переменной 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.

QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCOASQSVYHNTYLAWYQOKPGQPPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCN
DAAAYYCLGSDCTNGDCPIFGGGTEVVVKR (SEQ ID NOS: 35, 36, 37, соответственно)

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

CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAACAACCTGATCTATGATGC
ATCCACTCTGGCGTCTGGGGTCCCATCGCGGTTACAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTC ACTCTC ACCATCAGCGGC
GTGCAGTGTAACGATGCTGCCGCTTACTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTACTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAG
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT (SEQ ID NO: 171)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab4 (химера).

CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
GTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAACAACCTGATCTATGATGCATC
CACTCTGGCGTCTGGGGTCCCATCGCGGTTACAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTC ACTCTC ACCATCAGCGGCGTG
CAGTGTAACGATGCTGCCGCTTACTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTACTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGG
GACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 172)

Фиг. 4 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab5

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYMNVWRQAPGKGLEWVGVIGINGATYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
 GVTHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
 MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
 PIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 44)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab5 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYMNVWRQAPGKGLEWVGVIGINGATYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 43)

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYMNVWRQAPGKGLEWVGVIGINGATYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLVTVSS (SEQ ID NOS: 48, 49, 50, соответственно)

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

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
 TCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGGAGTCATTGGT
 ATTAATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTG
 TATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
 CCCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 183)

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

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
 TCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCGTCAAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCAATTGGTA
 TTAATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATCCAAGACCACGGTGT
 ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
 CCCTCGTCAACGCTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
 GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCGTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCT
 GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
 TCCAGCAGCTTGGGACACCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
 GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCACTCTCC
 TCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
 CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG
 AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
 AGTGCAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
 CACAGGTGTACACCCTGCCCCCAICCCCGGGAGGAGATGACCAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
 TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
 TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCCTTC
 ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
 NO. 184)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab5 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
 VATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSYSLSSITLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO. 42)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab5 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
 VATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO. 41)

Фиг. 5 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

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

QVLTQSPSSLASVIGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWYQOKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSIKCTINGDCTIFGGGKTKVEIKR (SEQ ID NOS 45, 46, 47 соответственно)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab5 (гуманизованная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAACATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCIGGGCAGTTAIGATTGTACTAATGGTGGATTGTTTTGTTTTCGGCCGGAG
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 181)

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

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAACATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
GTGTTTATCATAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGCATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCIGGGCAGTTAIGATTGTACTAATGGTGGATTGTTTTGTTTTCGGCCGGAGG
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGCTTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCCTCTGTTGIGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAACCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 182)

15/70

Фиг. 5 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab6

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDL SGYYMNWVRQAPGKGLEWVGVIGINGATYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQV
 HTPFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
 MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
 PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNV FSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 54)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab6 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDL SGYYMNWVRQAPGKGLEWVGVIGINGATYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 53)

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIDL SGYYMNWVRQAPGKGLEWVGVIGINGATYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGD/WGQGLVTVSS (SEQ ID NOS: 58, 59, 60, соответственно)

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

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
 TCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCGTCAGGCCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGGAGTCATTGGT
 ATTAATGGTGCCACATACTACGCGAGCIGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTG
 TATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTFATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
 CCCTCGTCAACGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 193)

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

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
 TCGACCTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGGAGTCATTGGTA
 TTAATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATCCAAGACCACGGTGT
 ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
 CCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
 GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCC CGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCT
 GACCAGCGGGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCTACAGICTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
 TCCAGCAGCTTGGGACACCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGAGAGTT
 GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
 TCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
 CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG
 AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTACGCGTCTACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
 AGTGCAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
 CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCT
 TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
 TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCCTTC
 ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
 NO. 194)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab6 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWYQOKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
 VATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO. 52)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab6 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWYQOKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
 VATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO. 51)

Фиг. 6 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

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

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWYQOKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYC***LGSDCTNGDKFTFGGGTKVEIKR*** (SEQ ID NOS: 55, 56, 57, соответственно)

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

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGT***TTATCATAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGC***
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGCTGGGCAGTTATGATTGTA***CTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAG***
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 191)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab6 (гуманизированная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
GTGT***TTATCATAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATGATGCATC***
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGCTGGGCAGTTATGATTGTA***CTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGG***
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGA***ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC***
TCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 192)

1870

Фиг. 6 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab7

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab7 (химера).

QEQLKESGGRLVTPGTSLTLTCTVSGIDL SNHYMQWVRQAPGKGLEWIGVVGINGRTYYASWAKGRFTISRTSSTTVDLKM
 TRLTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
 AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
 QQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 64)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи Ab7 (химера).

QEQLKESGGRLVTPGTSLTLTCTVSGIDL SNHYMQWVRQAPGKGLEWIGVVGINGRTYYASWAKGRFTISRTSSTTVDLKM
 TRLTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSS (SEQ ID NO: 63)

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

QEQLKESGGRLVTPGTSLTLTCTVSGIDL SNHYMQWVRQAPGKGLEWIGVVGINGRTYYASWAKGRFTISRTSSTTVDLKM
 TRLTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSS (SEQ ID NOS. 68, 69, 70, соответственно)

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

CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACATCCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGA
 ATCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGAGTCGTTGG
 TATTAATGGTCGCACATACTACGCCGAGCTGGGCCGAAAGGCCGATTACCCATCTCCAGAACCCTCGTCGACCACGGTGGAT
 CTGAAAATGACCAGGCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACC
 CTGGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 203)

Фиг. 7

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab7 (химера).

CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACATCCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGA
 ATCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGAGTCGTTGGT
 ATTAATGGTCGCACATACTACGCGAGCTGGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAACCTCGTCGACCACGGTGGAT
 CTGAAAATGACCAGGCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACC
 CTGGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGG
 GCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGA
 CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC
 CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGA
 GCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCACAGCAGCCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTC
 TCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG
 AAGACCCIGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG
 CAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCCTACCGTCCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAG
 TGCAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA
 CAGGTGTACACCTTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCCTC
 TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCCTGTCTG
 GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT
 GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
 NO. 204)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab7 (химера).

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNYNYLAWYQOKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTQFTLTISDVQCD
 DAATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNPFYPREAKVQWKVDNALQSGN
 SQESVTEQDSKDYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 62)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab7 (химера).

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNYNYLAWYQOKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTQFTLTISDVQCD
 DAATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO. 61)

Фиг. 7 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

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

QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNYNYLAWYQOKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGSSGTQFTLTISDVQCD
DAATYYCLGSDC'*STGDC'*FFGGGTEVVVKR (SEQ ID NOS: 65, 66, 67, соответственно)

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

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATAATTACAACCTTGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACA
TCCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACG
TGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATGACTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCCGAGG
GACCGAGGTGGTGGTCAAACGT (SEQ ID NO: 201)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи
Ab7 (химера).

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTATAATTACAACCTTGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACAT
CCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGT
GCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATGACTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTCGGCCGAG
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCITCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATC
TGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCC
CTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTTG
ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC
ACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 202)

2170

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA^VSGIDLSNH^MQWVRQAPGKGLEWVGVVINGR^TYYASWAKGRFTISRDN^SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
 HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
 MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
 PIEKTI^SKA^KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK^TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNV^FSCSV^MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 74)

Белковая последовательность вариательной области тяжелой цепи Ab8 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA^VSGIDLSNH^MQWVRQAPGKGLEWVGVVINGR^TYYASWAKGRFTISRDN^SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 73)

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA^VSGIDLSNH^MQWVRQAPGKGLEWVGVVINGR^TYYASWAKGRFTISRDN^SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLVTVSS (SEQ ID NOS: 78, 79, 80, соответственно)

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

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

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab8
(гуманизированная).

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
TCGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGGTCCGTCAAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCGTTGGTA
TCAATGGTCGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
CCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCC TGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAC TCAGGCGCCCT
GACCAGCGGGCTGCACACCTTCCCGGCTGTCC TACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGT
GAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
TCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCC TCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG
AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
AGTGCAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAGGGGCAGCCCCGAGAAC
CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCC TGGTCAAAGGCT
TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCCTTCTC
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
NO: 214)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи
Ab8 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLASVGDRTVINCQASQSVYNYNLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCSTGDC FVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSLSSLTILSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 72)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab8
(гуманизированная).

QVLTQSPSSLASVGDRTVINCQASQSVYNYNLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSYDCSTGDC FVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 71)

Фиг. 8 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

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

QVL TQSPSSLSASV GDRVTINCQASQSVYNYNLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTL ASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPED
VATYYC(I~~G~~S)D~~C~~S(I~~G~~D~~C~~)TFGGGTKVEIKR (SEQ ID NOS 75, 76, 77, соответственно)

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

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AGTGTTTACAATTACAACCTACCTTGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTAC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAG
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 211)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab8
(гуманизированная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
GTGTTTACAATTACAACCTACCTTGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGG
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 212)

Фиг. 8 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab9

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab9 (химера).

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIGLSSYMQWVRQSPGRGLEWIGVIGSDGKTYATWAKGRFTISKTSSTTVDLRMAS
 LTTEDTATYFCTRWDIWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
 LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 84)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab9 (химера).

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIGLSSYMQWVRQSPGRGLEWIGVIGSDGKTYATWAKGRFTISKTSSTTVDLRMAS
 LTTEDTATYFCTRWDIWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 83)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab9 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIGLSSYMQWVRQSPGRGLEWIGVIGSDGKTYATWAKGRFTISKTSSTTVDLRMAS
 LTTEDTATYFCTRWDIWGPGTLVTVSS (SEQ ID NOS. 88, 89, 90, соответственно)

Последовательность ДНК варибельной области тяжелой цепи Ab9 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCG
 GCCTCAGTAGCTACTACATGCAGTGGGTCCGCCAGTCTCCAGGGAGGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTAGT
 GATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAGACCTCGTCGACCACGGTGGATCTG
 AGAATGGCCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCCGGGGACCCCTC
 GTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 223)

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab9 (химера).

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCG
 GCCTCAGTAGCTACTACATGCAGTGGGTCCGCCAGTCTCCAGGGAGGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTAGTG
 ATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAGACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGA
 GAATGGCCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGGACCCCTCG
 TCACCGTCTCGAGCGCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGGGCAC
 AGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAG
 CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC
 AGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC
 AAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCC
 CCCCAAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAG
 ACCCTGAGGTC AAGTTC AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA AAGCCGCGGGAGGAGCAG
 TACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
 AAGGTCTCCAAACAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG
 GTGTACACCCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC
 CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTCTGGACT
 CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC
 CGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTA AATGA (SEQ ID NO: 224)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab9 (химера).

QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFRGSGSGTQFTLTISDVQCD
 DAATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
 SQESVTEQDSKDSYSLSSLTTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (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.

QVL TQTPSPVSAAVGSTVTINCAASQNVVYNNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFRGSGSGTQFTLTISDVQCD
DAATYYCLGSDXSRGDCFTFGGGTEVVVKR (SEQ ID NOS: 85, 86, 87, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab9 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AATGTTTATAATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTAC
GTCCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTACAGAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGAC
GTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAG
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT (SEQ ID NO: 221)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи
Ab9 (химера).

CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
ATGTTTATAATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACGTC
CACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTACAGAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTG
CAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGG
GACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 222)

Фиг. 9 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Ab10

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи
Ab10 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTYYA TWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCTR GDIWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 94)

Белковая последовательность вариабельной области тяжелой цепи
Ab10 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTYYA TWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCTR GDIWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 93)

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTYYA TWAKGRFTISRDN SKTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCTR GD/WGQGLVTVSS (SEQ ID NOS: 98, 99, 100, соответственно)

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

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTC TCCTGTGCAGTCTCTGGAA
TCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTA
GTGATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCC AAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTACCAGAGGGGACA/CTGGGGCCAAGGGAC
CCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 233)

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab10 (гуманизированная).

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
 TCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTA
 GTGATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGACCACGGTGT
 ATCTTCAAATGAACAGCC TGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
 CCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
 GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAC TCAGGCGCCCT
 GACCAGCGGGCTGCACACCTTCCCCGGCTGTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
 TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
 GAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACCTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
 TCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCC TCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
 CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGG
 AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
 AGTGCAAGGTCTCCAAACAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
 CACAGGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
 TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
 TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
 ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
 NO 234)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab10 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
 VATYYCLGSYDCSRGDC FVFGGGTKVEIKR TVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNFEYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 92)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab10 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
 VATYYCLGSYDCSRGDC FVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 91)

Фиг. 10 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

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

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPED
VATYYCLGSIYDCSRGIDCFIFGGGKVEIKR (SEQ ID NOS: 95, 96, 97, соответственно)

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

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AATGTTTACAATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTAC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTAGTCGGGGTATTGTTTTGTTTTCGGCGGAG
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 231)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab10 (гуманизованная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
ATGTTTACAATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATGATTGTAGTCGGGGTATTGTTTTGTTTTCGGCGGAGG
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 232)

3070

Ab11

Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи

Ab11 (химера).

QSLEESGGRLVTPGGSLTLTCTVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGVNGKRYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMT
SLTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 104)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи

Ab11 (химера).

QSLEESGGRLVTPGGSLTLTCTVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGVNGKRYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMT
SLTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSS (SEQ ID NO: 103)

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

QSLEESGGRLVTPGGSLTLTCTVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGVNGKRYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMT
SLTTEDTATYFCARGDIWGPGLVTVSS (SEQ ID NOS: 108, 109, 110, соответственно)

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

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCTGGAGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCG
ACGTCACTAACTACTATAATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTGTGA
ATGGTAAGAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGA
AAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTCTGTGCCAGAGGCGACATCTGGGGCCCCGGGGACCCTCGT
CACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 243)

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи
Ab11 (химера).

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTACGCCTGGAGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCG
ACGTCACTAACTACTATATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTGTGA
ATGGTAAGAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGA
AAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGGGCGACATCTGGGGCCCCGGGGACCCTCG
TCACCGTCTCGAGCGCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGGCAC
AGCGGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAG
CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC
AGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC
AAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCC
CCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAG
ACCTTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGGAGCAG
TACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG
GTGTACACCTTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC
CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTCTGGACT
CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC
CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO: 244)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи
Ab11 (химера).

QVLTQTASPVSPA VGSTVTINCRASQSVYYNNYLAWYQOKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGGSGGTQFTLTISDVQCDD
AATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 102)

Белковая последовательность варибельной области легкой
цепи Ab11 (химера).

QVLTQTASPVSPA VGSTVTINCRASQSVYYNNYLAWYQOKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGGSGGTQFTLTISDVQCDD
AATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 101)

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

QVL TQTASPVSPA VGSTVTINCRASQSVYYNNYLA WYQOKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTQF TL TISDVQCD
DAATYYCIGSYDC^{SMGDC}TFGGGTEVVVKR (SEQ ID NOS: 105, 106, 107, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab11 (химера). CDR1: полужирный;
CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAGGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCGTGTCTCCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAG
AGTGTTTATTATAACAAC TACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTAC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTC ACTCTCACCATCAGCGAC
GTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTC TAGGCAGTTATGATTGTAGTAATGGTGATTGTTTGTTCGGCGGAG
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT (SEQ ID NO: 241)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab11 (химера).

CAGGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCGTGTCTCCAGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGA
GTGTTTATTATAACAAC TACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTC ACTCTCACCATCAGCGACGTG
CAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTC TAGGCAGTTATGATTGTAGTAATGGTGATTGTTTGTTCGGCGGAGG
GACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAAC TGCCTCTGTTGTGTGCC TGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 242)

33/70

Ab12Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab12 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGVNGKRYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
 HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNIHKPSNTKVDKRVPEPKSCDK'THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
 MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
 PIEKTI SKAKGQPREPOVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 114)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab12 (гуманизированная).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGVNGKRYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYL
 QMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 113)

Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab12 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGVNGKRYYASWAKGRFTISRDN SKTTVY
 LQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGLVTVSS (SEQ ID NOS: 118, 119, 120, соответственно)

Последовательность ДНК варибельной области тяжелой цепи Ab12 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
 TCGACGTCACTAACTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCAATTGGTG
 TGAATGGTAAGAGATACTACGCGAGCTGGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATCCAAGACCACGGTGT
 ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGAC
 CCTCGTCAACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 253)

**Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи
Ab12 (гуманизированная).**

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
 TCGACGTCACТААСТACTACATGCAATGGGTCCGTCAAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTG
 TGAATGGTAAGAGATACTACGCGAGCTGGGGCGAAAGGCCGATTCAACATCTCCAGAGACAATCCAAGACCACGGTGT
 ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
 CCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
 GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAC TCAGGCGCCCT
 GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
 TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTT
 GAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAC TCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
 TCTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
 CGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA AAGCCGCGGGAGG
 AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
 AGTGCAAGGTCTCC AACA AAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAGCC AAGGGCAGCCCCGAGAAC
 CACAGGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
 TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
 TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
 ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCC TGCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
 NO: 254)

**Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи
Ab12 (гуманизированная).**

QVLTQSPSSLSASVGRVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDV
 ATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
 ESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 112)

**Белковая последовательность варибельной области легкой
цепи Ab12 (гуманизированная).**

QVLTQSPSSLSASVGRVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDV
 ATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 111)

Фиг. 12 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Белковая последовательность вариабельной области легкой цепи Ab12 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QVL TQSPSSL SASVGDRVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSLASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLPED
VATYYC*LGSDCSAGDC*FTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NOS: 115, 116, 117, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab12 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAG
AGTGTTTACTATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTAC
ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTC*TGGGCAGTTATGATTGTAGTAAIGGIGATTGTTTIGTTTCGGCGGAG*
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO: 251)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи
Ab12 (гуманизированная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGA
GTGTTTACTATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATC
CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCCTGGGCAGTTATGATTGTAGTAAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGG
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC
TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 252)

36/70

Ab13**Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи Ab13 (химера).**

QSVEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFDFSSNAMWWVRQAPGKGLEWIGCIYNGDGSTYYASWVNGRFSISKTSSTTVTLQL
 NSLTVADTATYYCARDL DLWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
 FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
 SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
 KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
 WQQGNV FSC SVMHEALHINHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 124)

Белковая последовательность вариательной области тяжелой цепи Ab13 (химера).

QSVEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFDFSSNAMWWVRQAPGKGLEWIGCIYNGDGSTYYASWVNGRFSISKTSSTTVTLQL
 NSLTVADTATYYCARDL DLWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 123)

Белковая последовательность вариательной области тяжелой цепи Ab13 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QSVEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFDFSSNAMWWVRQAPGKGLEWIGCIYNGDGSTYYASWVNGRFSISKTSSTTVTLQL
 NSLTVADTATYYCARDL DLWGPGTLVTVSS (SEQ ID NOS: 128, 129, 130 соответственно)

Последовательность ДНК вариательной области тяжелой цепи Ab13 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGAGGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCC
 GACTTCAGTAGCAATGCAATGTGGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCATTTACAA
 TGGTGATGGCAGCACATACTACGCGAGCTGGGTGAAIGGCCGATTC^{**CCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGT**}ACT
 CTGCAACTGAATAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACGTAATTATTGTGCGAGAGATTTGACTTGTGGGGCCCGGGCA
 CCCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 263)

Фиг. 13

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи Ab13 (химера).

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGAGGGATCCC TGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCC
 GACTTCAGTAGCAATGCAATGTGGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCAITTTACAAT
 GGTGATGGCAGCACATACTACGCGAGCTGGGTGAATGGCCGATTCCTCCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGACTC
 TGCAACTGAATAGTCTGACAGTCGCGGACACGGCCACGTATTATTGTGCGAGAGATCTTGACTTGTGGGGCCCGGGCAC
 CCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACC AAGGGCCCATCGGTCCTCCCCCTGGCACCTCTCC AAGAGCACCTCTGGG
 GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTG
 ACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT
 CCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAC AAGCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTTG
 AGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTT
 CTCCCCCAAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC
 GAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA AAGCCGCGGGAGGA
 GCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCC TCACCGTCTTGACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA
 GTGCAAGGTCTCCAACA AAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACC ATCTCCA AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACC
 ACAGGTGTACACCC TGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTT
 CTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCTCCCGTGCT
 GGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA
 TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACC ACTACACGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID
 NO: 264)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи Ab13 (химера).

AIVMTQTPSSK SVPVGDVTINCQASESLYNNALAWFQOKPGQPPKRLIYDASKLASGVPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCD
 DAATYYCGGYRSDSVDGVAFAAGGTEVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPREAKVQWKVDNALQSGN
 SQESVTEQDSKDYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 122)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab13 (химера).

AIVMTQTPSSK SVPVGDVTINCQASESLYNNALAWFQOKPGQPPKRLIYDASKLASGVPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCD
 DAATYYCGGYRSDSVDGVAFAAGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 121)

Белковая последовательность вариабельной области легкой цепи Ab13 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

AIVMTQTPSSKSVPVGDTV**TINCQASESLYNNALAWFQOKPGQPPKRLIYDASKL**ASGVPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCD
DAATYYCGG**YRSDSVDGFA**FAGGTEVVYKR (SEQ ID NOS: 125, 126, 127, соответственно)

Последовательность ДНК вариабельной области легкой цепи Ab13 (химера). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

GCCATCGTGATGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGAGACACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGT
GAGAGTCTTTATAATAACAACGCCTTGGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCGCCTGATCTATGA
TGCATCCAAACTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAGTGGCGGTGGGTCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGT
GGCGTGCAAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTGGAGGC**TACAGAAGTGATAGIGTTGATGGTGTGCTTTCGCCGGA**
GGGACCGAGGTGGTGGTCAAACGT (SEQ ID NO: 261)

Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи
Ab13 (химера).

GCCATCGTGATGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGAGACACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGT
AGAGTCTTTATAATAACAACGCCTTGGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCGCCTGATCTATGATGC
ATCCAAACTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAGTGGCGGTGGGTCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGTGGC
GTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTGGAGGCTACAGAAGTGATAGTGTGATGGTGTGCTTTCGCCGAG
GGACCGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATC
TGGAAC**TGCCTCTGTTGTGTGCCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCC**
CTCCAATCGGGTA**ACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTG**
ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAAAGICTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC
ACAAAGAGCTTCAAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO: 262)

39/70

Ab14

**Полноразмерная белковая последовательность тяжелой цепи
Ab14 (гуманизированная).**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTYyatwAKGRFTISRDNskTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCTRgDIWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 134)

**Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи
Ab14 (гуманизированная).**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTYyatwAKGRFTISRDNskTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCTRgDIWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 133)

**Белковая последовательность варибельной области тяжелой цепи Ab14 (гуманизированная). CDR1: полужирный;
CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGSDGKTYyatwAKGRFTISRDNskTTVYL
QMNSLRAEDTAVYFCTRgDIWGQGLVTVSS (SEQ ID NOS: 138, 139, 140, соответственно)

**Последовательность ДНК варибельной области тяжелой цепи Ab14 (гуманизированная). CDR1: полужирный; CDR2:
подчеркнутый; CDR3: курсив.**

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
TCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTA
GTGATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGAC
CCTCGTCACCGTCTCGAGC (SEQ ID NO: 273)

Фиг. 14

Полноразмерная последовательность ДНК тяжелой цепи
Ab14 (гуманизированная).

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAA
TCGGCCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCATTGGTA
GTGATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTCCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGT
ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTTCTGTACCAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGA
CCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAC TCAGGCGCCCT
GACCAGCGGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCACAGTCC TCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
TCCAGCAGCTTGGGACACCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGCGAGAGTT
GAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
TCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA
CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG
AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCC TGCAACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA
AGTGCAAGGTCTCCAAACAAGCCCTCCCAGCCCC ATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
CACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
TGGACTCCGACGGTCCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCC TCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID
NO: 274)

Полноразмерная белковая последовательность легкой цепи
Ab14 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
VATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 132)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи
Ab14 (гуманизированная).

QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
VATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 131)

Фиг. 14 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Белковая последовательность варибельной области легкой цепи Ab14 (гуманизованная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

QVLTQSPSSLSASVGRVTINCQASQNVYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCLGSI^{DCSRGDC}FFGGG^{TKVEIKR} (SEQ ID NOS 135, 136, 137, соответственно)

Последовательность ДНК варибельной области легкой цепи Ab14 (гуманизованная). CDR1: полужирный; CDR2: подчеркнутый; CDR3: курсив.

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAG
AATGTTTACAATAACAAC^{TACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTAC}
^{ATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGC}
^{CTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTC}*TGGGCAGTTATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTGTGTTTCGGCGGAG*
GAACCAAGGTGGAAATCAAACGT (SEQ ID NO 271)

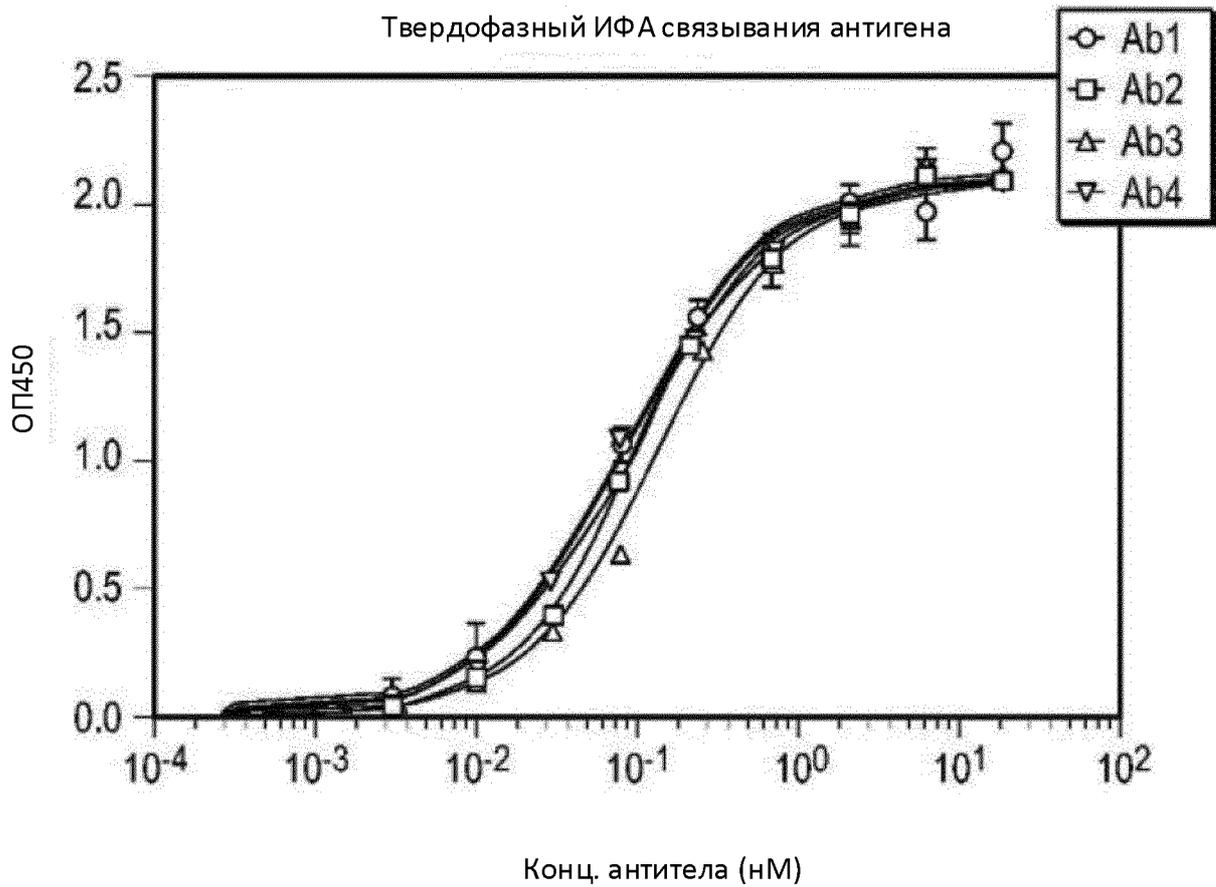
Полноразмерная последовательность ДНК легкой цепи Ab14 (гуманизованная).

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGA
ATGTTTACAATAACAAC^{TACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGCAACTGATCTATTCTACATC}
^{CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG}
^{CAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTC}*TGGGCAGTTATGATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTGTGTTTCGGCGGAGG*
AACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGITGAAATCT
GGAAC^{TGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC}
^{TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA}
^{CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA}
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG (SEQ ID NO 272)

Фиг. 14 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

FIG. 14 (Continued)

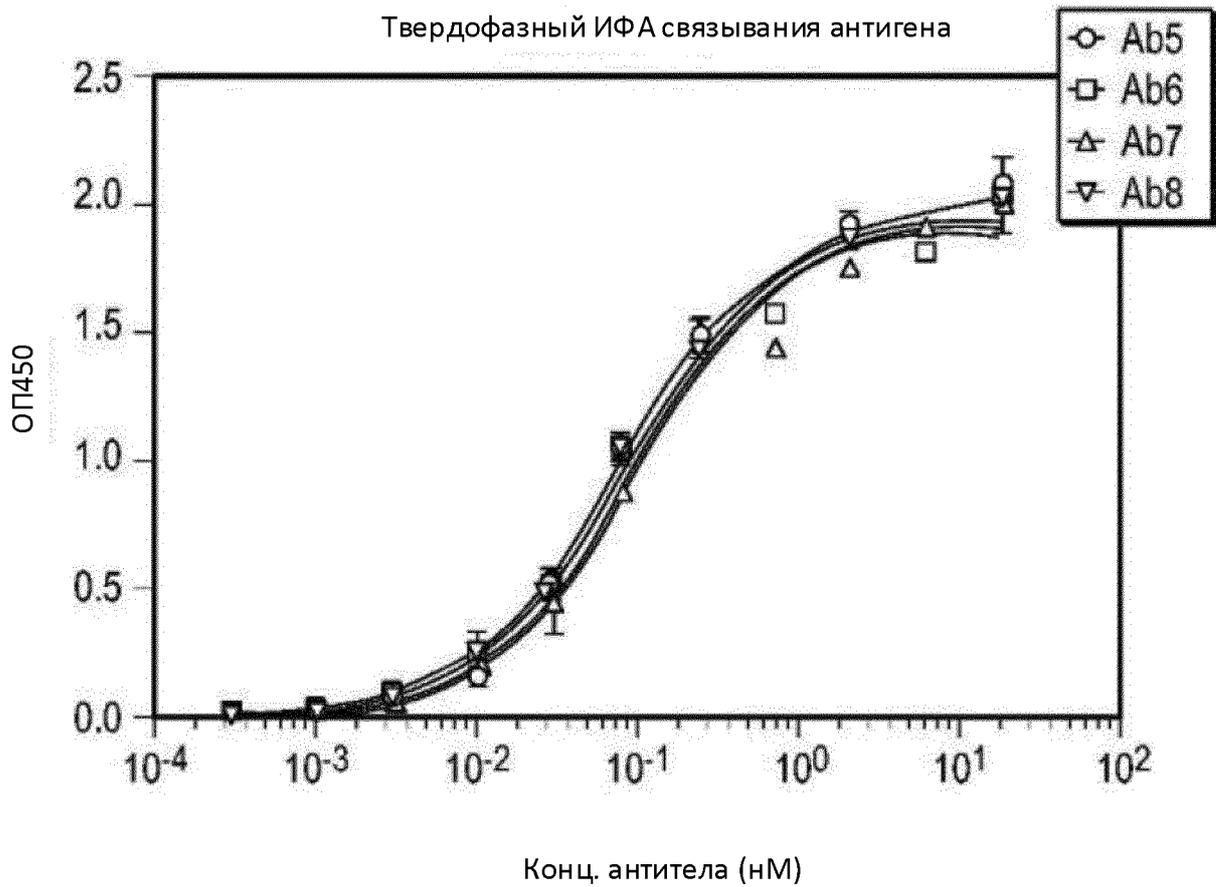
43/70

Твердофазный ИФА CGRP α человека

	EC50 (нМ)
Ab1	103
Ab2	83
Ab3	154
Ab4	88

Фиг. 15

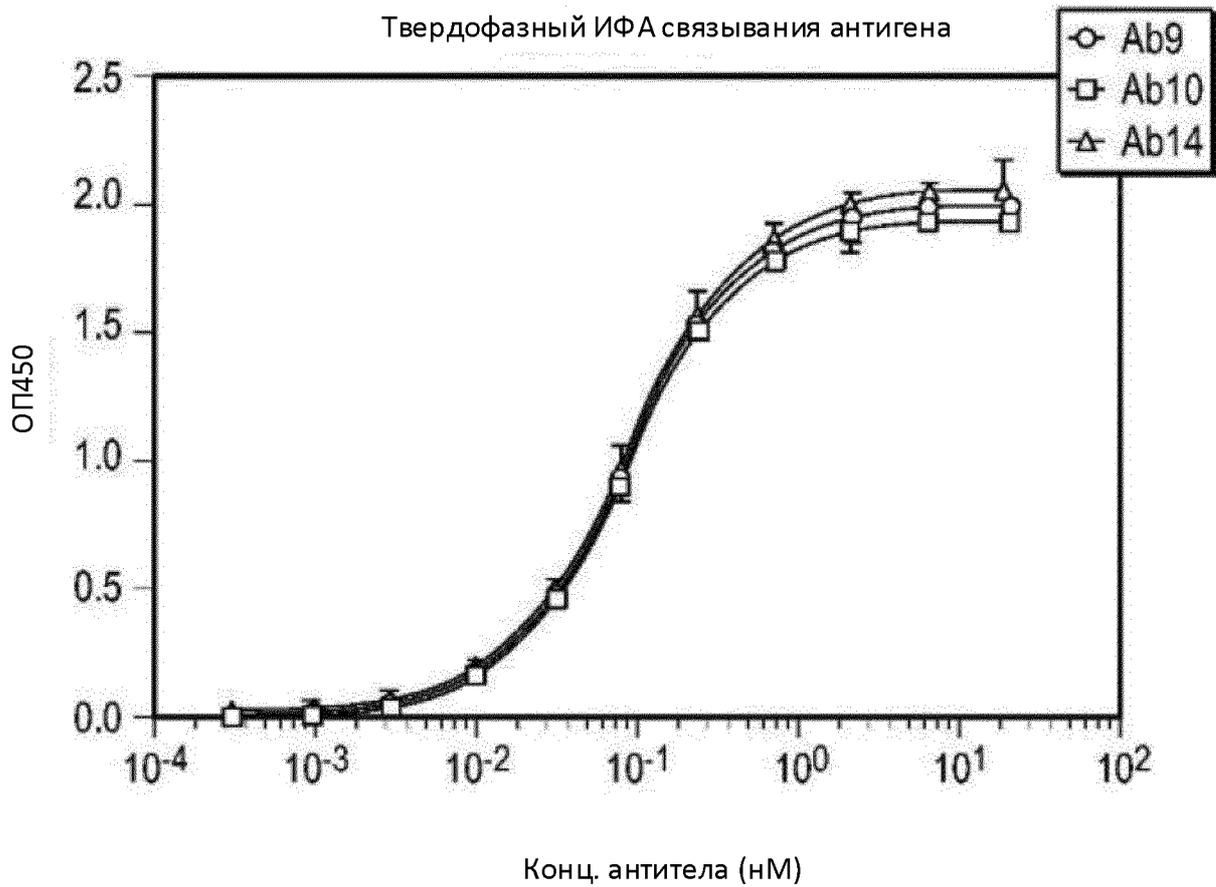
44/70

Твердофазный ИФА CGRP α человека

	EC50 (нМ)
Ab5	103
Ab6	95
Ab7	70
Ab8	74

Фиг. 16

45/70

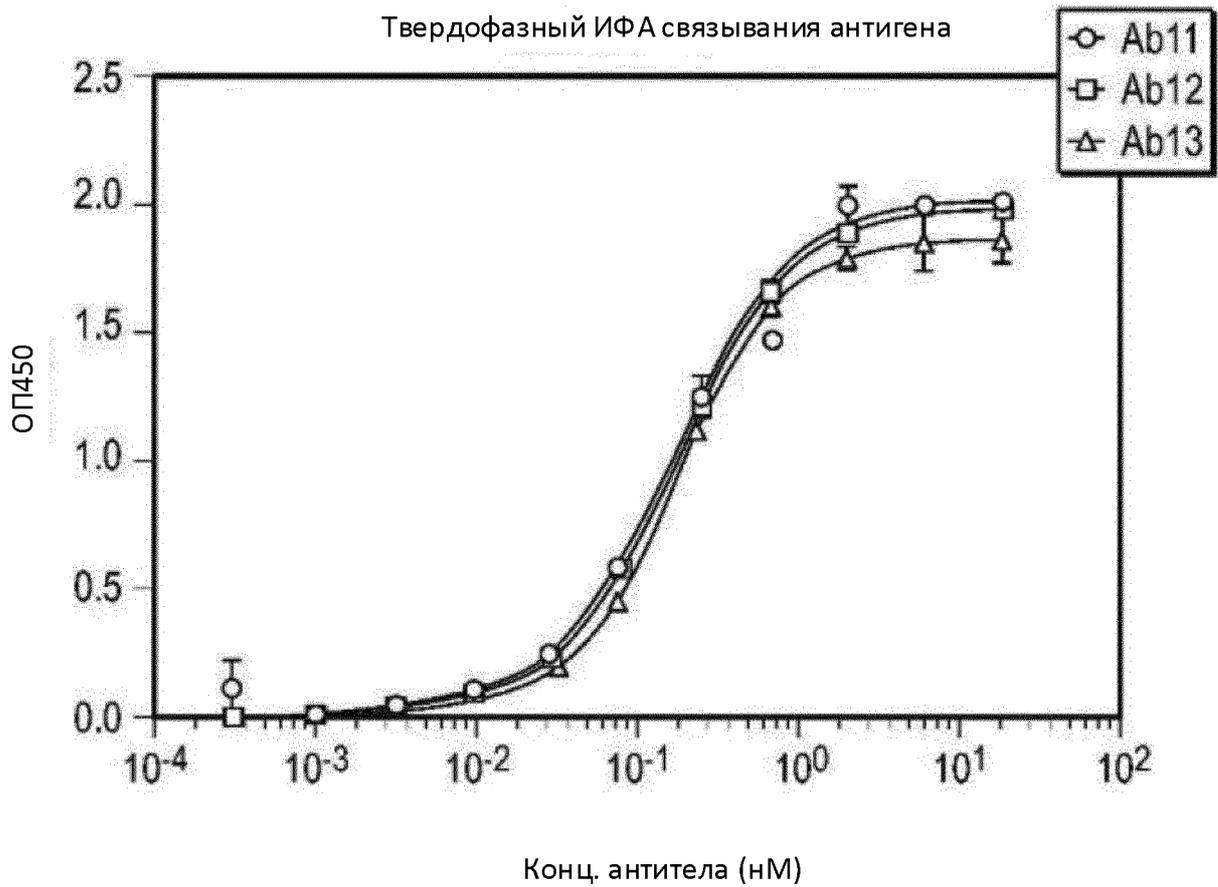
Твердофазный ИФА CGRP α человека

	EC50 (нМ)
Ab9	79
Ab10	92
Ab14	89

Фиг. 17

46/70

Твердофазный ИФА CGRP α человека



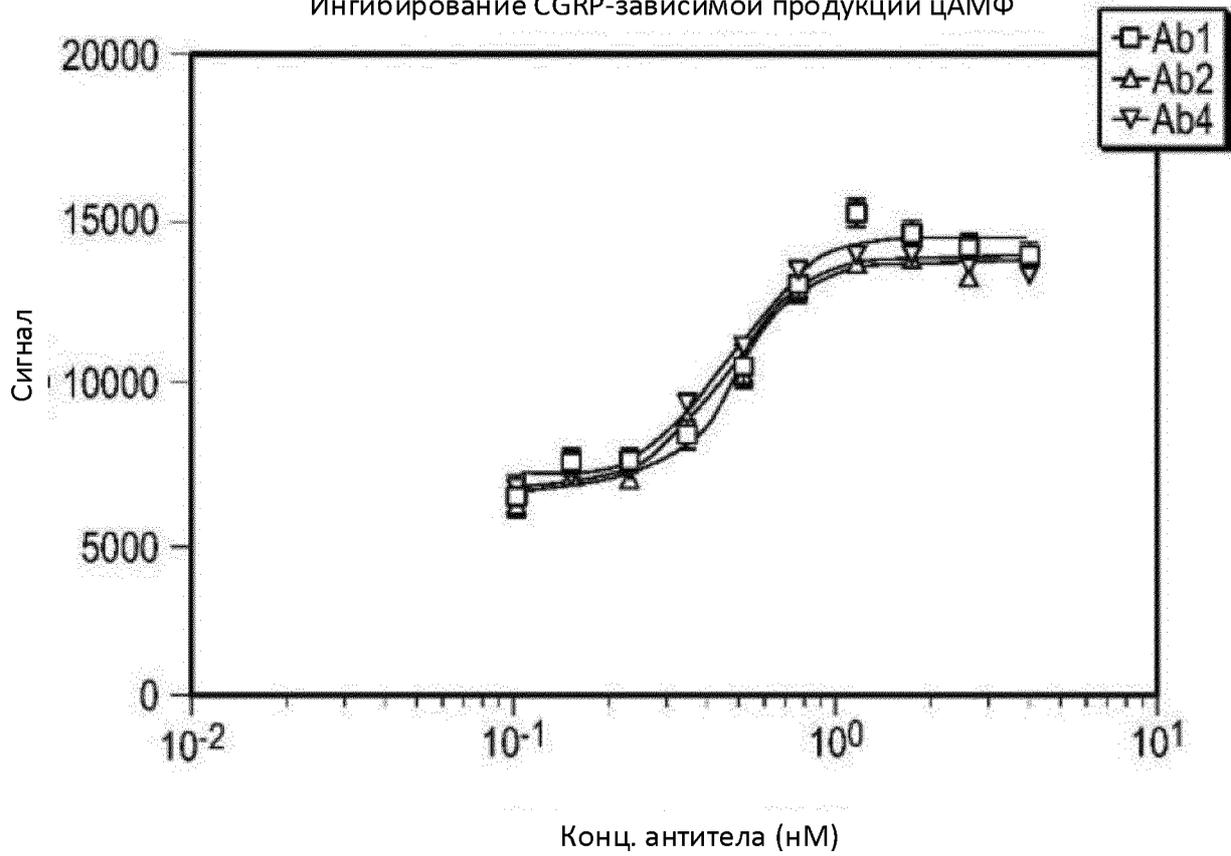
	EC50 (пМ)
Ab11	184
Ab12	171
Ab13	188

Фиг. 18

47/70

цАМФ CGRP α человека

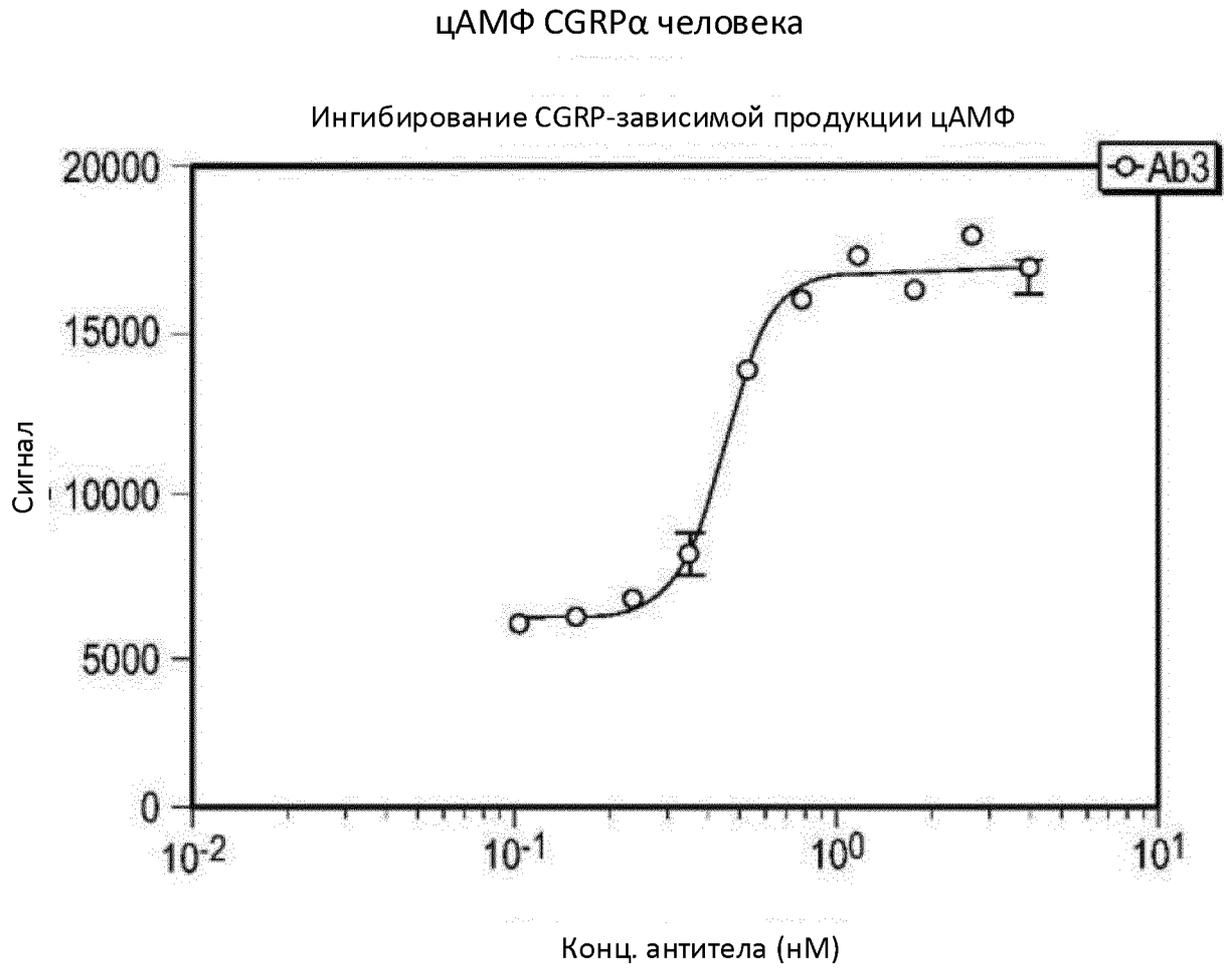
Ингибирование CGRP-зависимой продукции цАМФ



	IC50 (nM)
Ab1	531
Ab2	452
Ab4	429

Фиг. 19

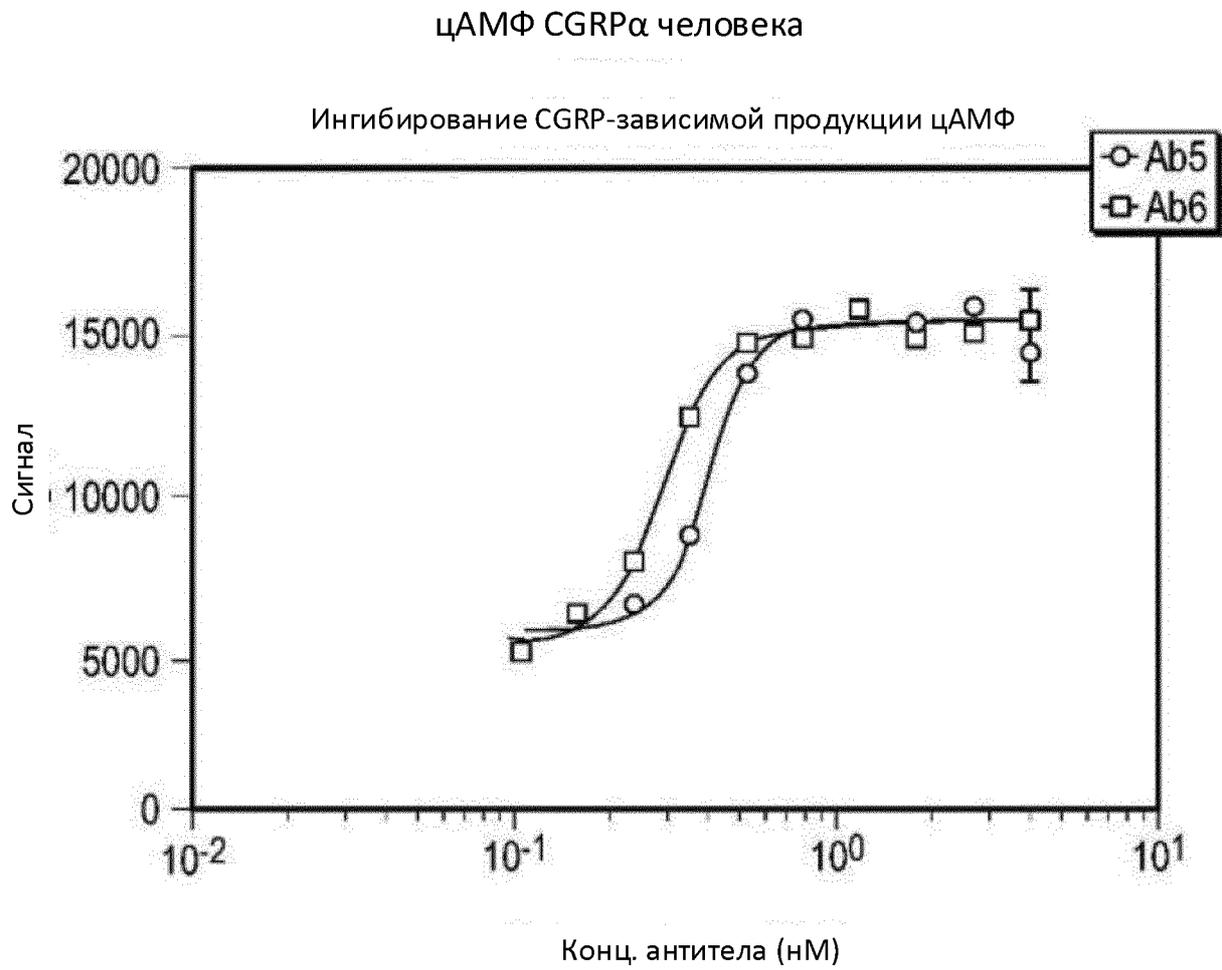
48/70



	IC50 (пМ)
Ab3	452

Фиг. 20

49/70

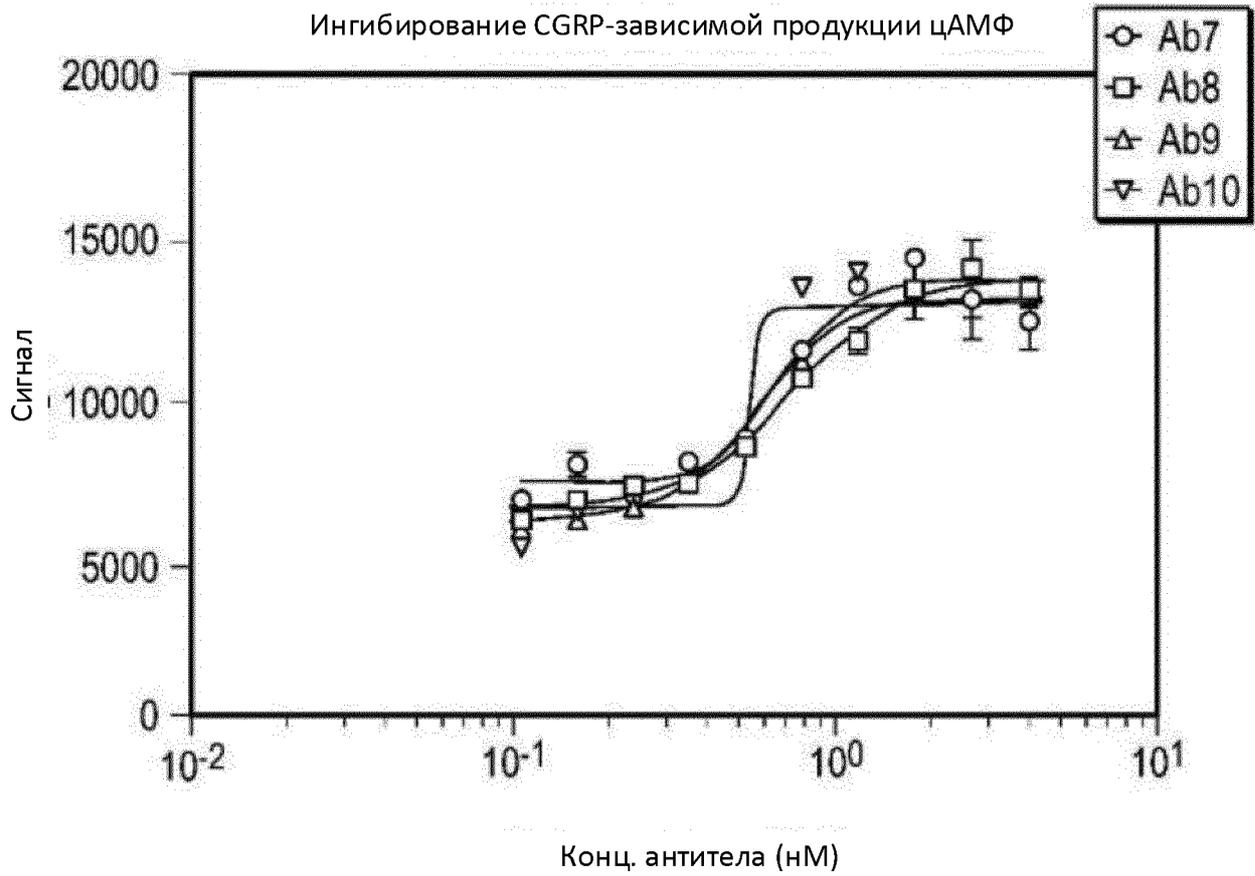


	IC50 (нМ)
Ab5	400
Ab6	288

Фиг. 21

50/70

цАМФ CGRPα человека



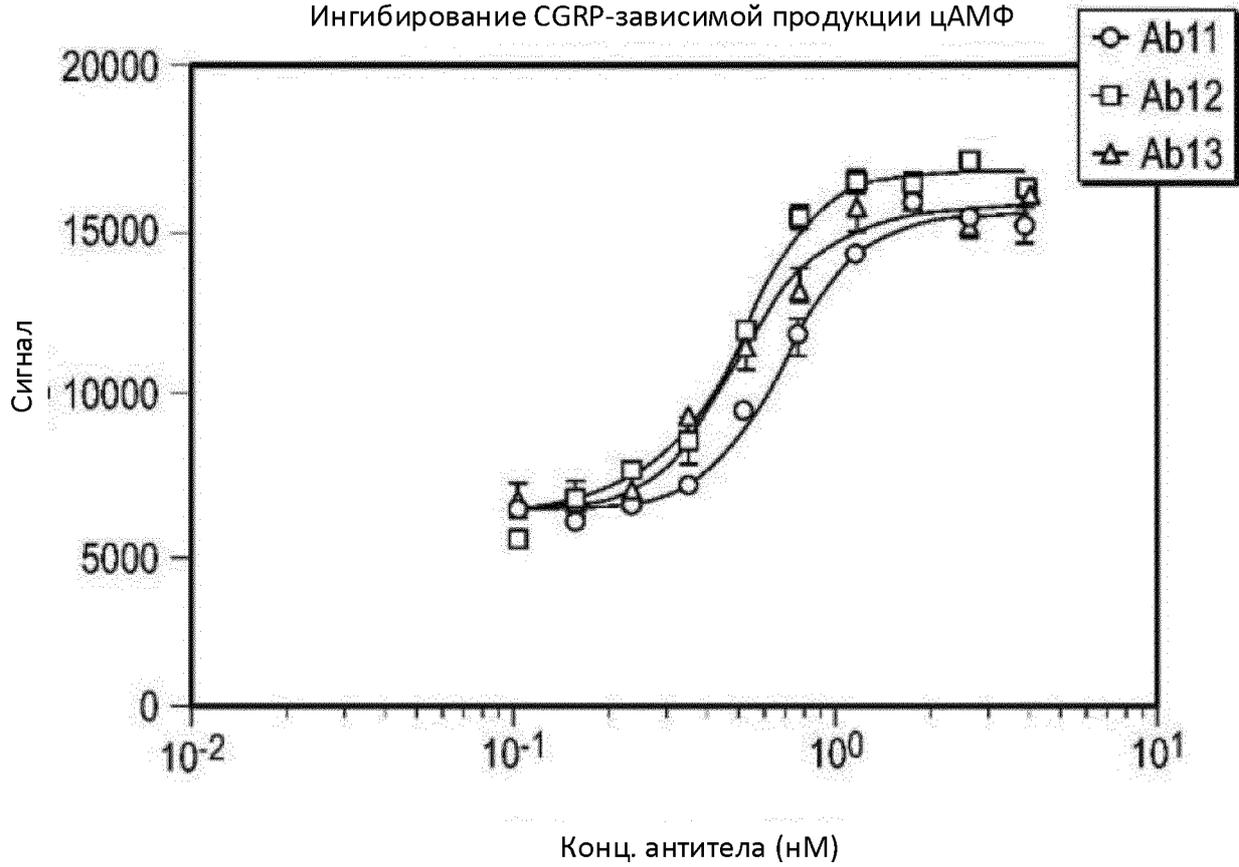
	IC50 (nM)
Ab7	743
Ab8	734
Ab9	568
Ab10	542

Фиг. 22

51/70

цАМФ CGRP α человека

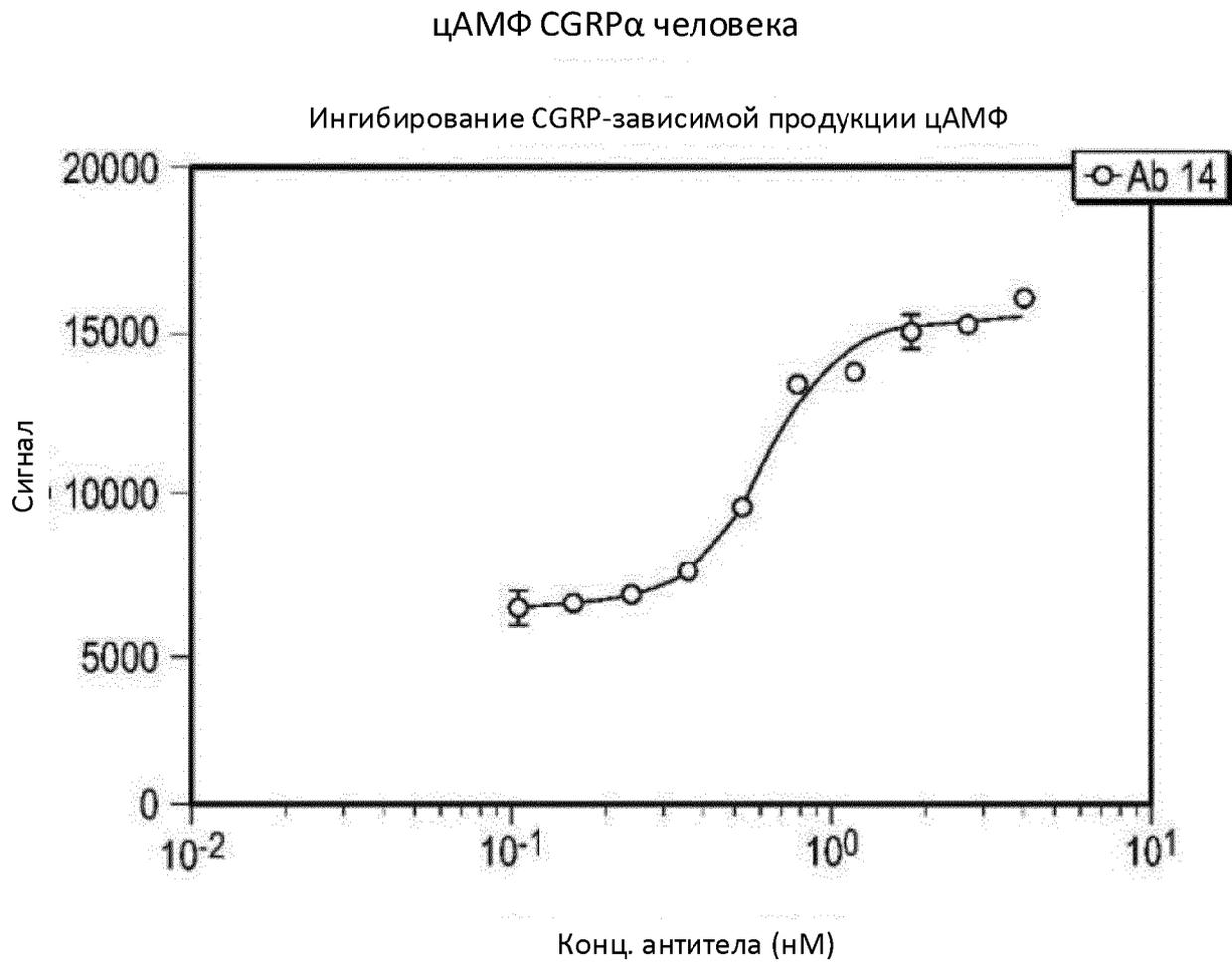
Ингибирование CGRP-зависимой продукции цАМФ



	IC50 (нМ)
Ab11	698
Ab12	511
Ab13	498

Фиг. 23

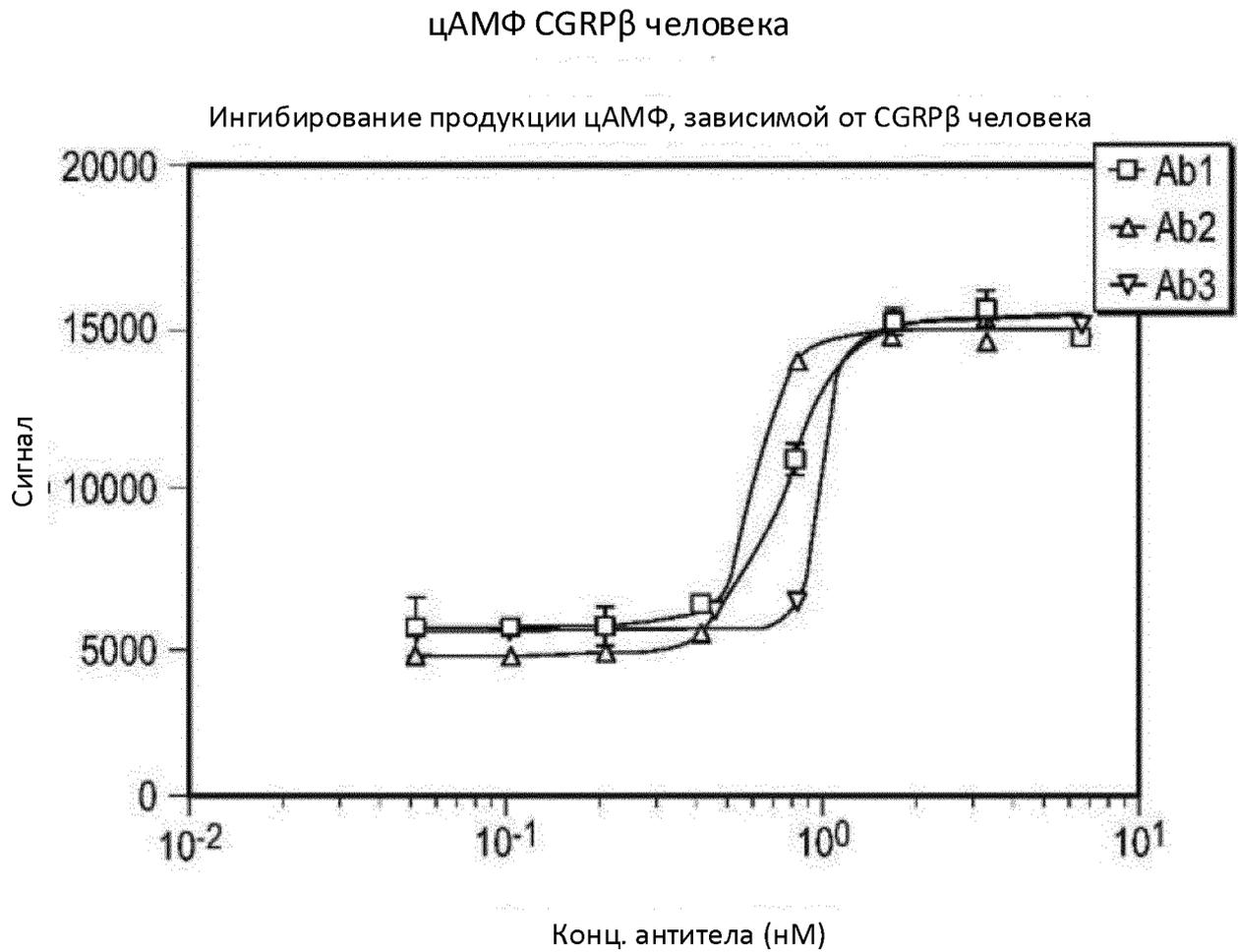
52/70



	IC50 (пМ)
Ab14	631

Фиг. 24

53/70



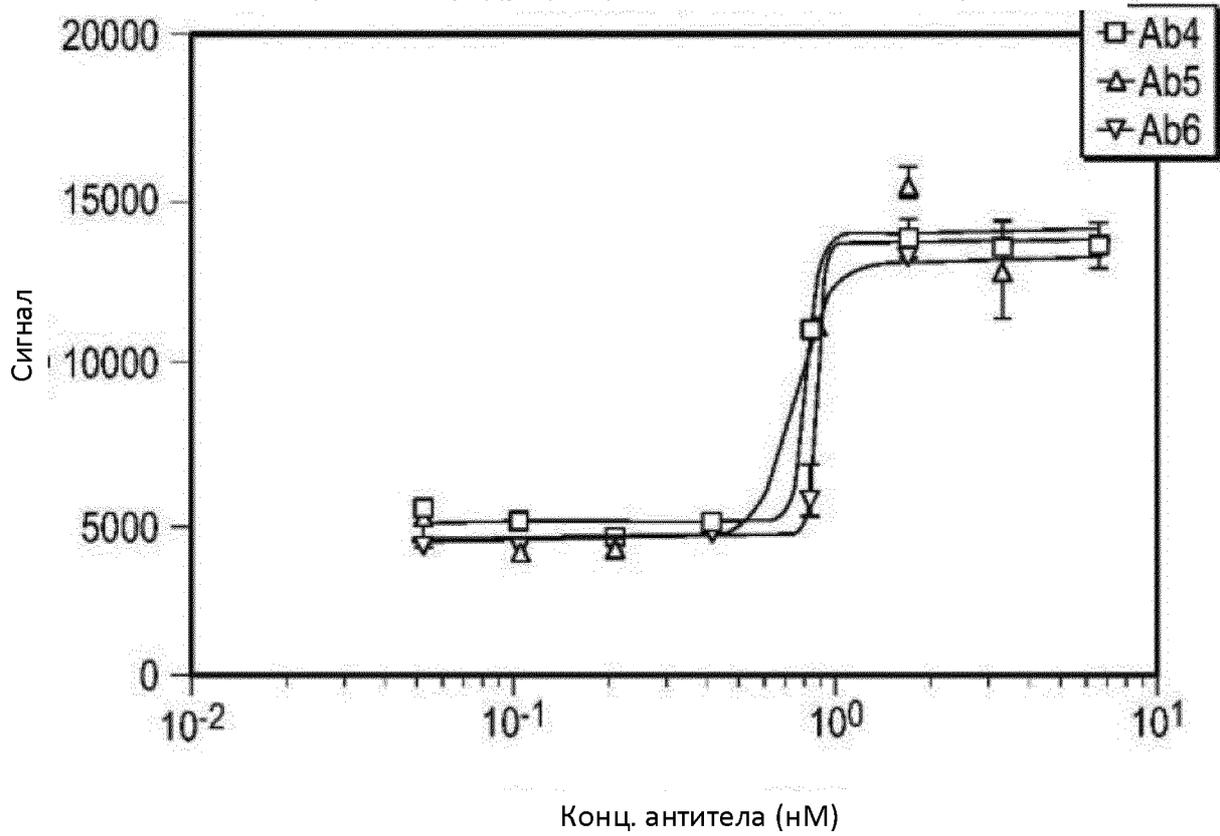
	IC50 (нМ)
Ab1	801
Ab2	601
Ab3	989

Фиг. 25

54/70

цАМФ CGRPβ человека

Ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRPβ человека



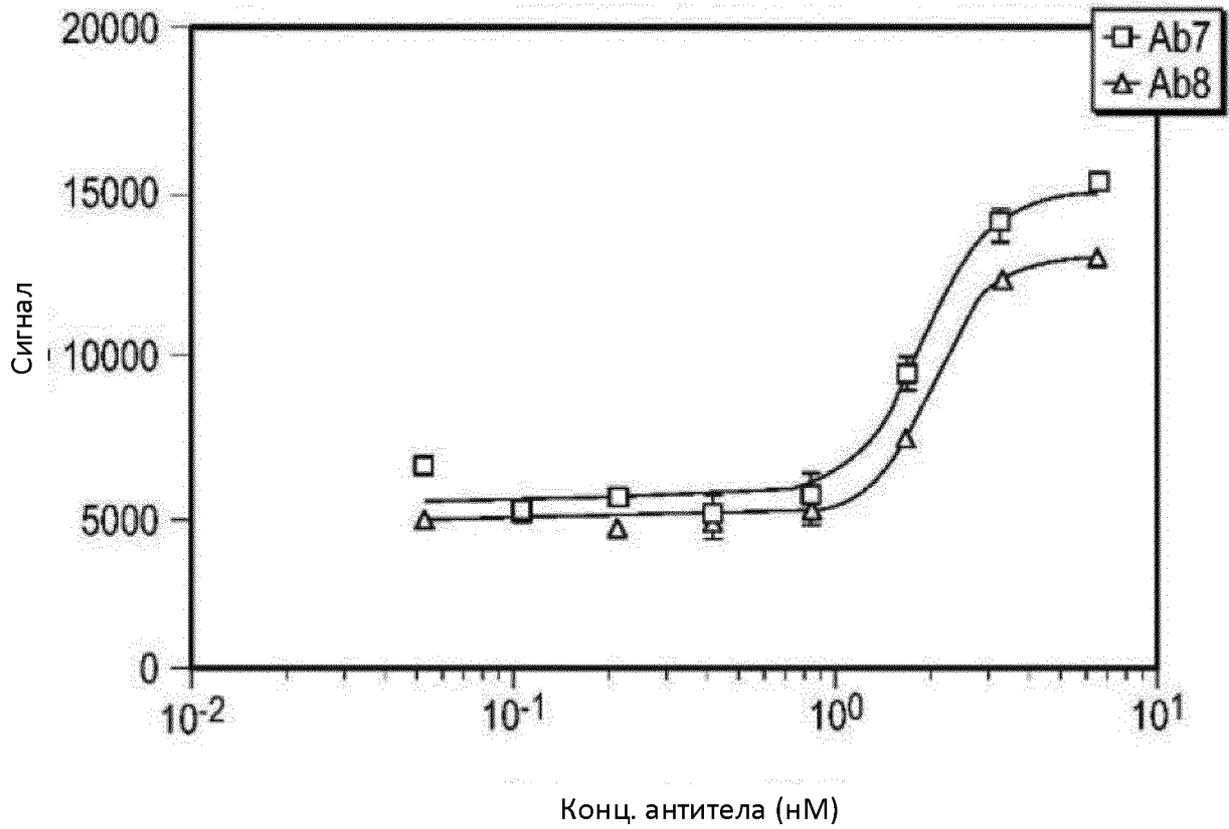
	IC50 (нМ)
Ab4	805
Ab5	875
Ab6	740

Фиг. 26

55/70

цАМФ CGRPβ человека

Ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRPβ человека



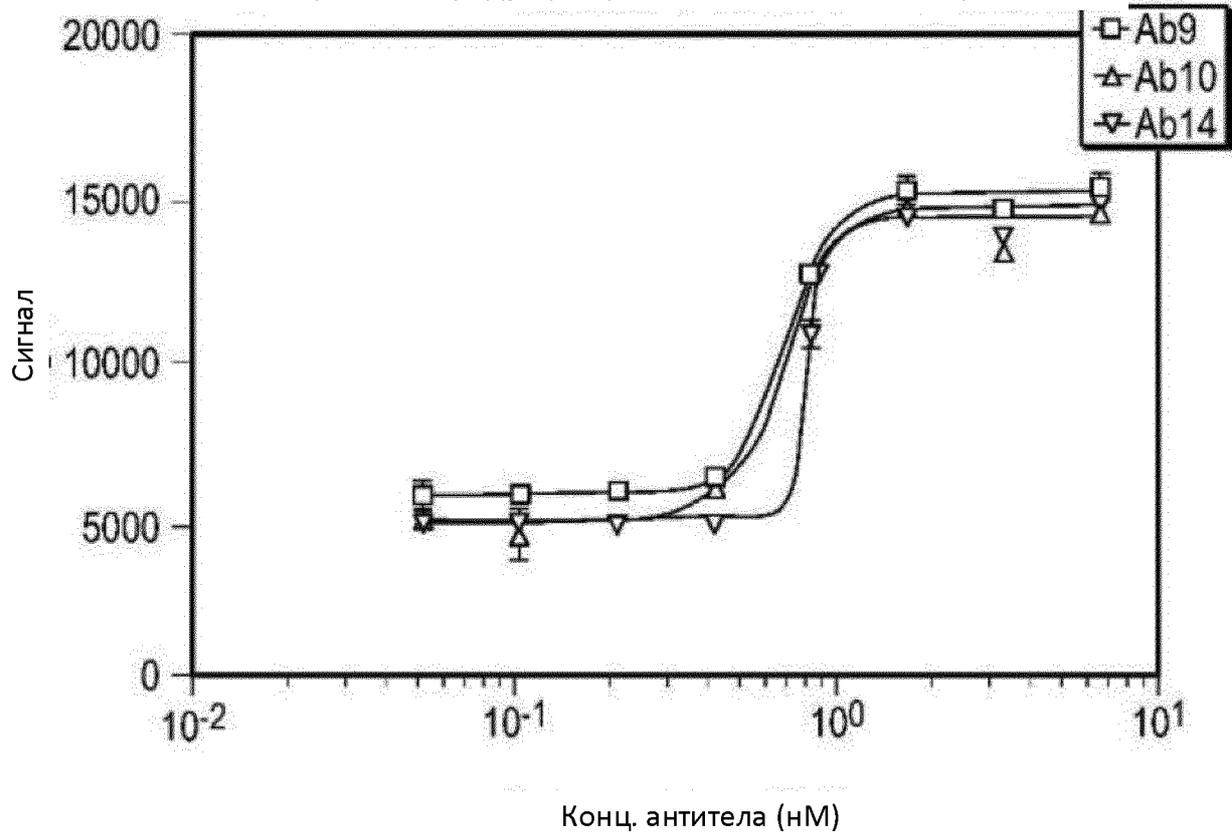
	IC50 (пМ)
Ab7	1858
Ab8	1981

Фиг. 27

56/70

цАМФ CGRPβ человека

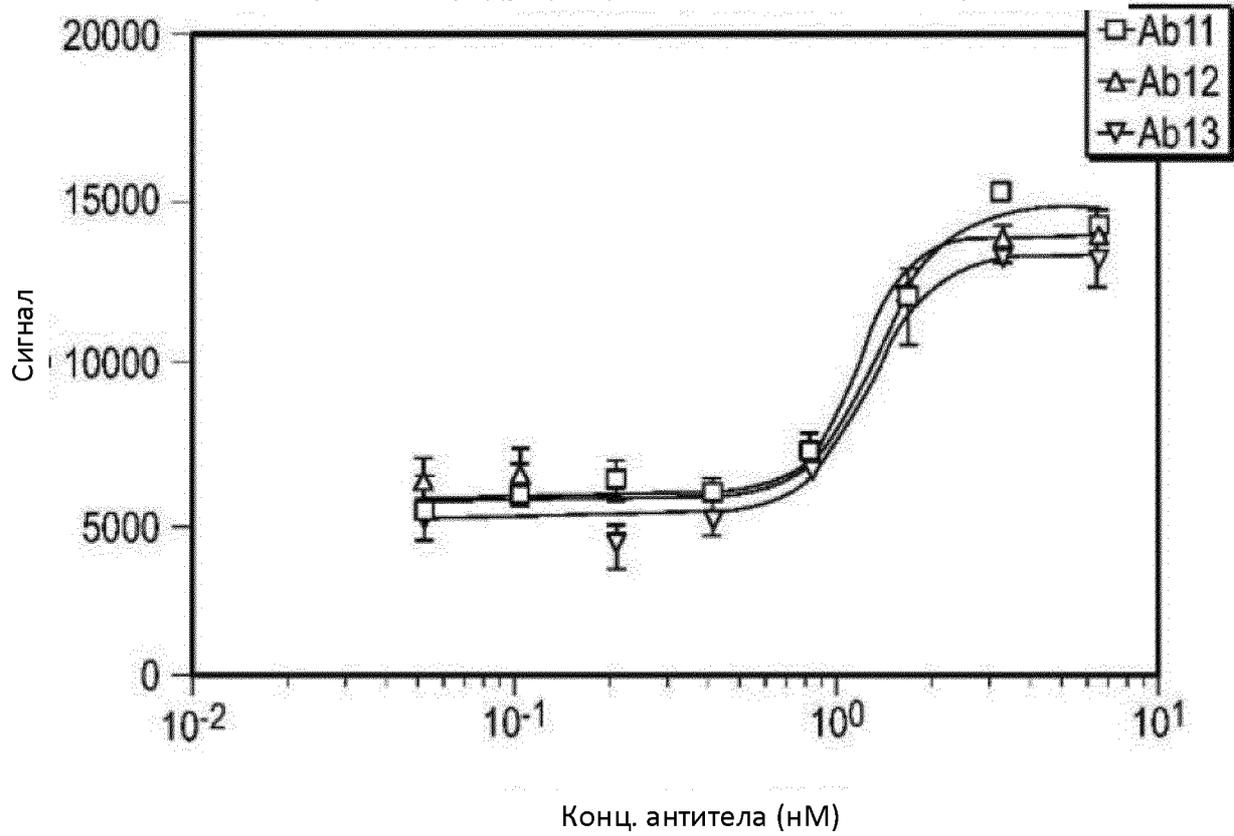
Ингибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRPβ человека



	IC50 (пМ)
Ab9	716
Ab10	641
Ab14	812

Фиг. 28

57/70

цАМФ CGRP β человекаИнгибирование продукции цАМФ, зависимой от CGRP β человека

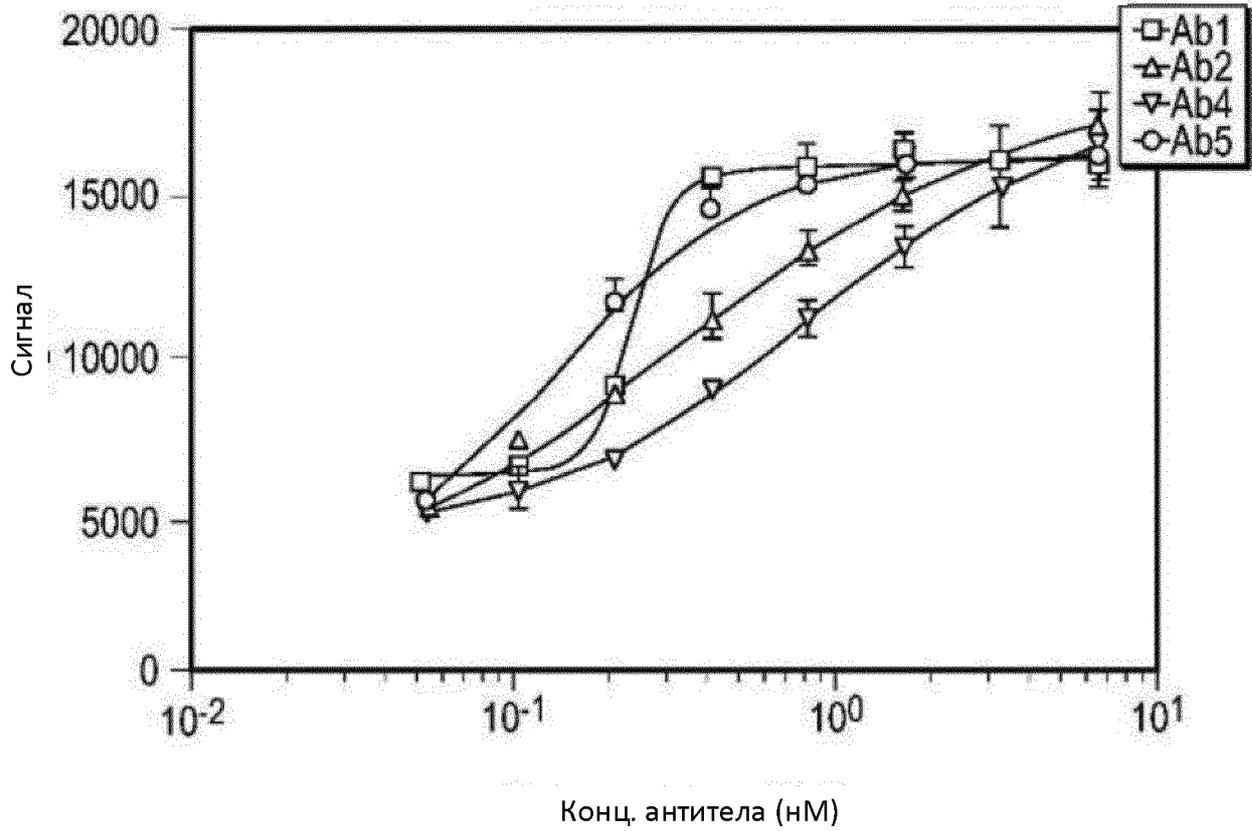
	IC50 (пМ)
Ab11	1344
Ab12	1181
Ab13	1276

Фиг. 29

58/70

цАМФ CGRP крысы

Ингибирование rtCGRP-зависимой продукции цАМФ

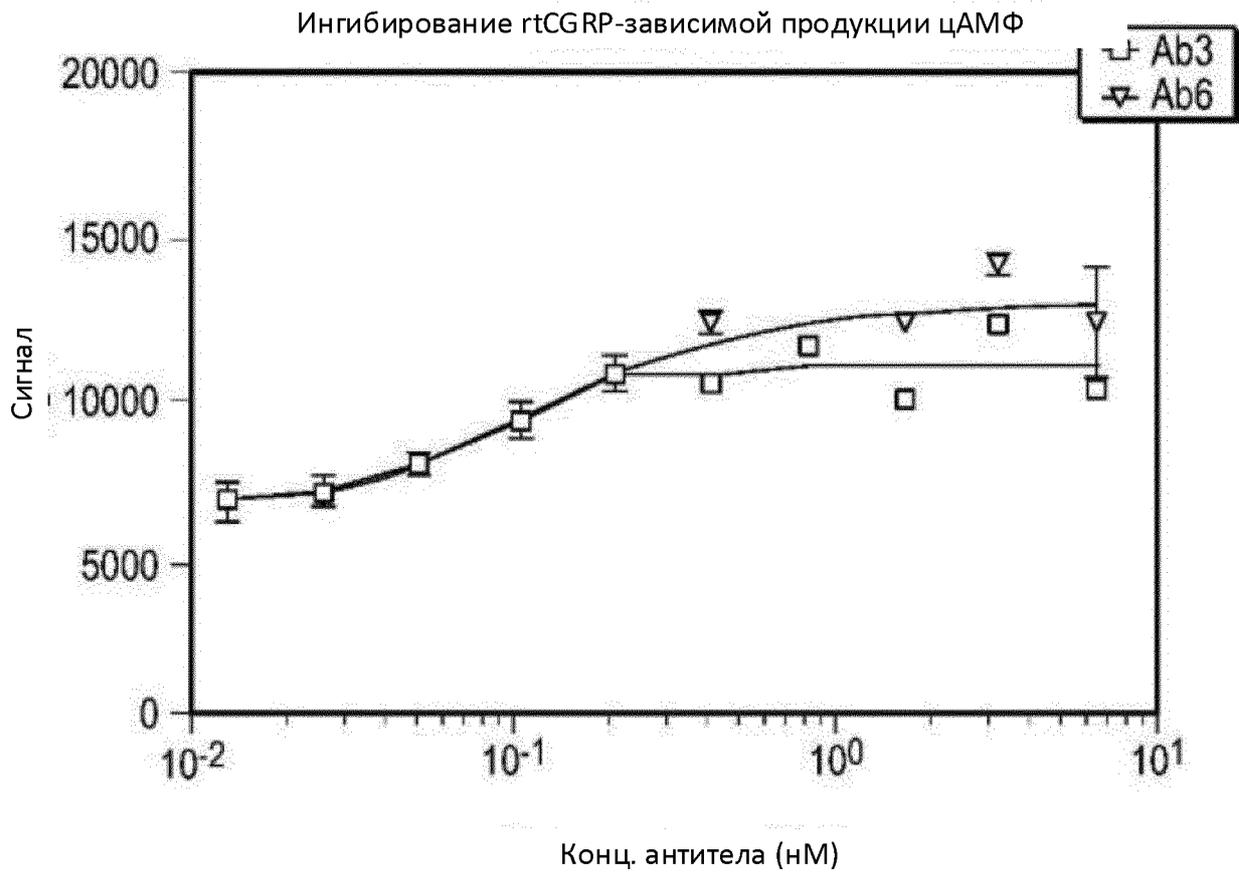


	IC50 (nM)
Ab1	239
Ab2	142
Ab4	868
Ab5	334

Фиг. 30

59/70

цАМФ CGRP крысы



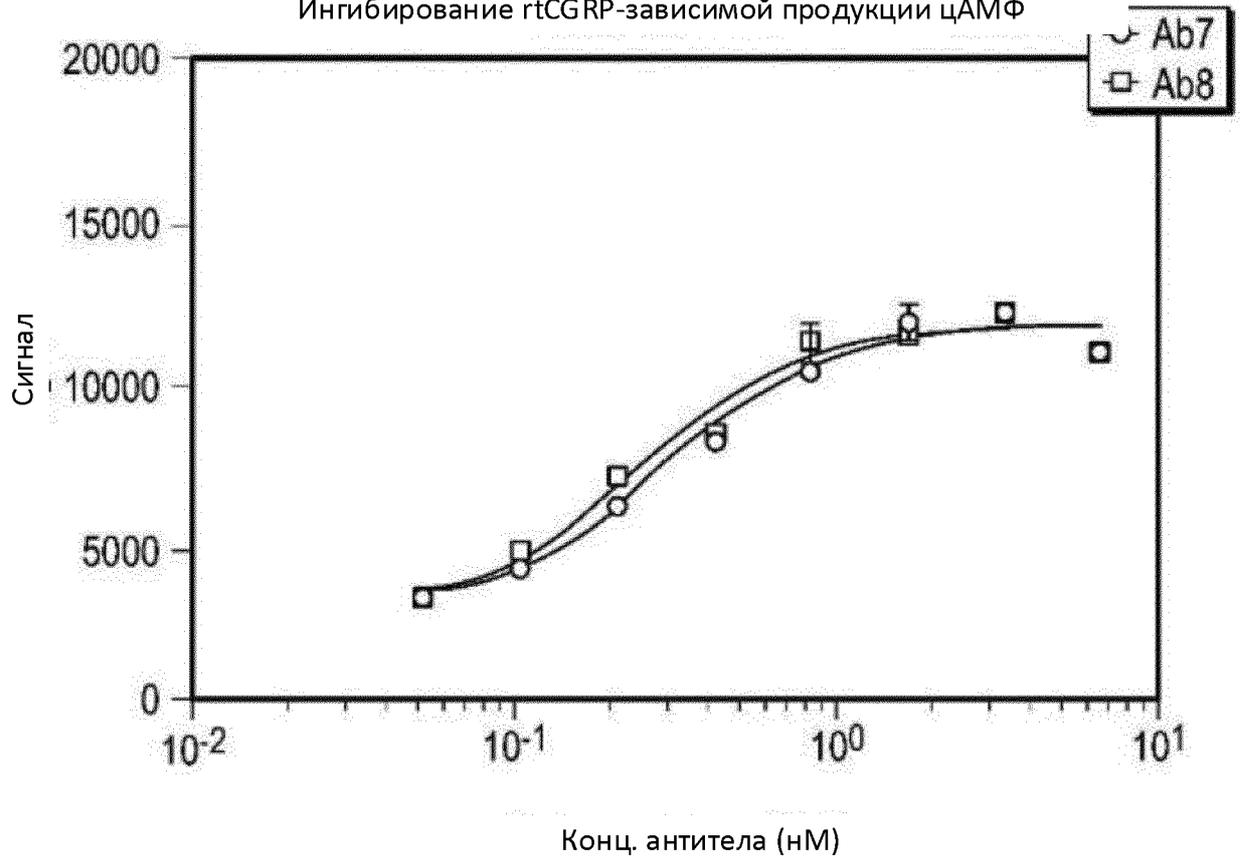
	IC50 (нМ)
Ab3	85
Ab6	111

Фиг. 31

60/70

цАМФ CGRP крысы

Ингибирование rtCGRP-зависимой продукции цАМФ



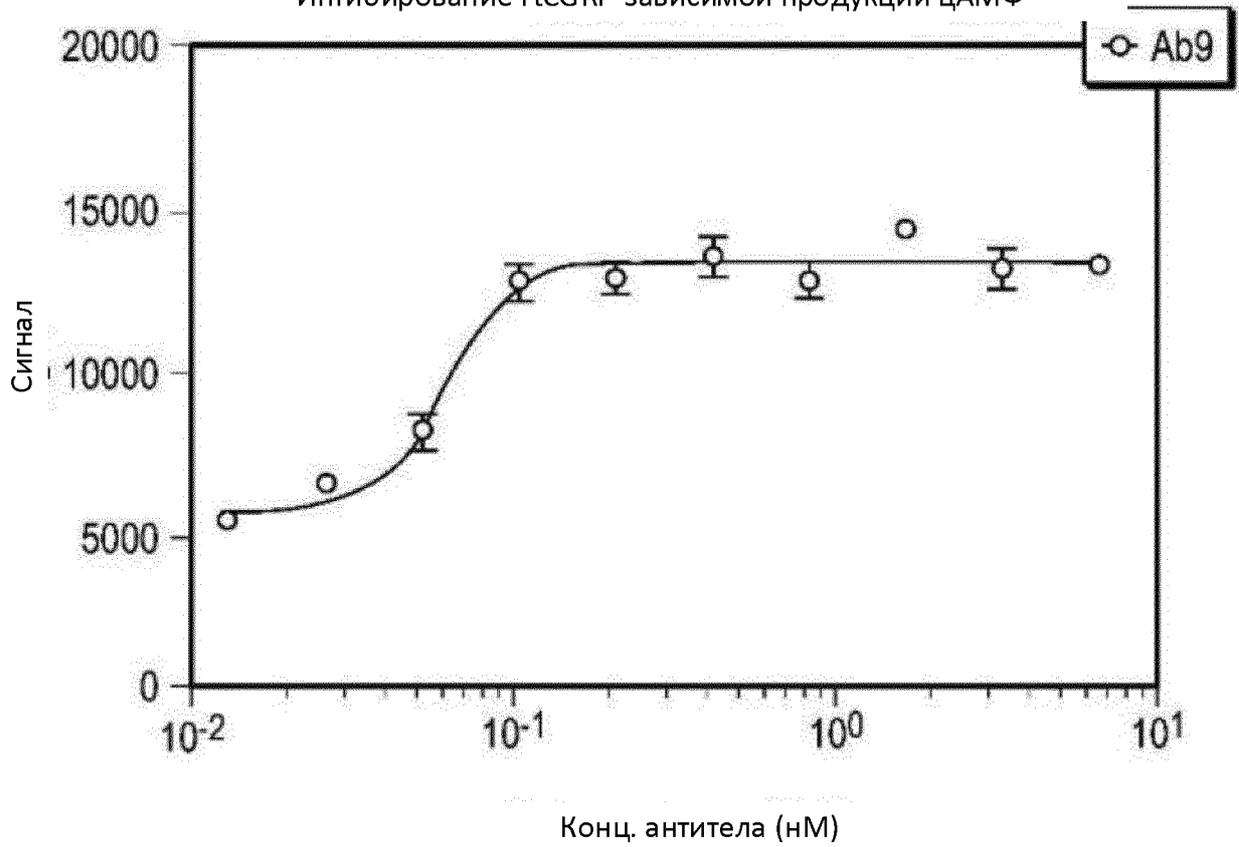
	IC50 (нМ)
Ab7	297
Ab8	243

Фиг. 32

61/70

цАМФ CGRP крысы

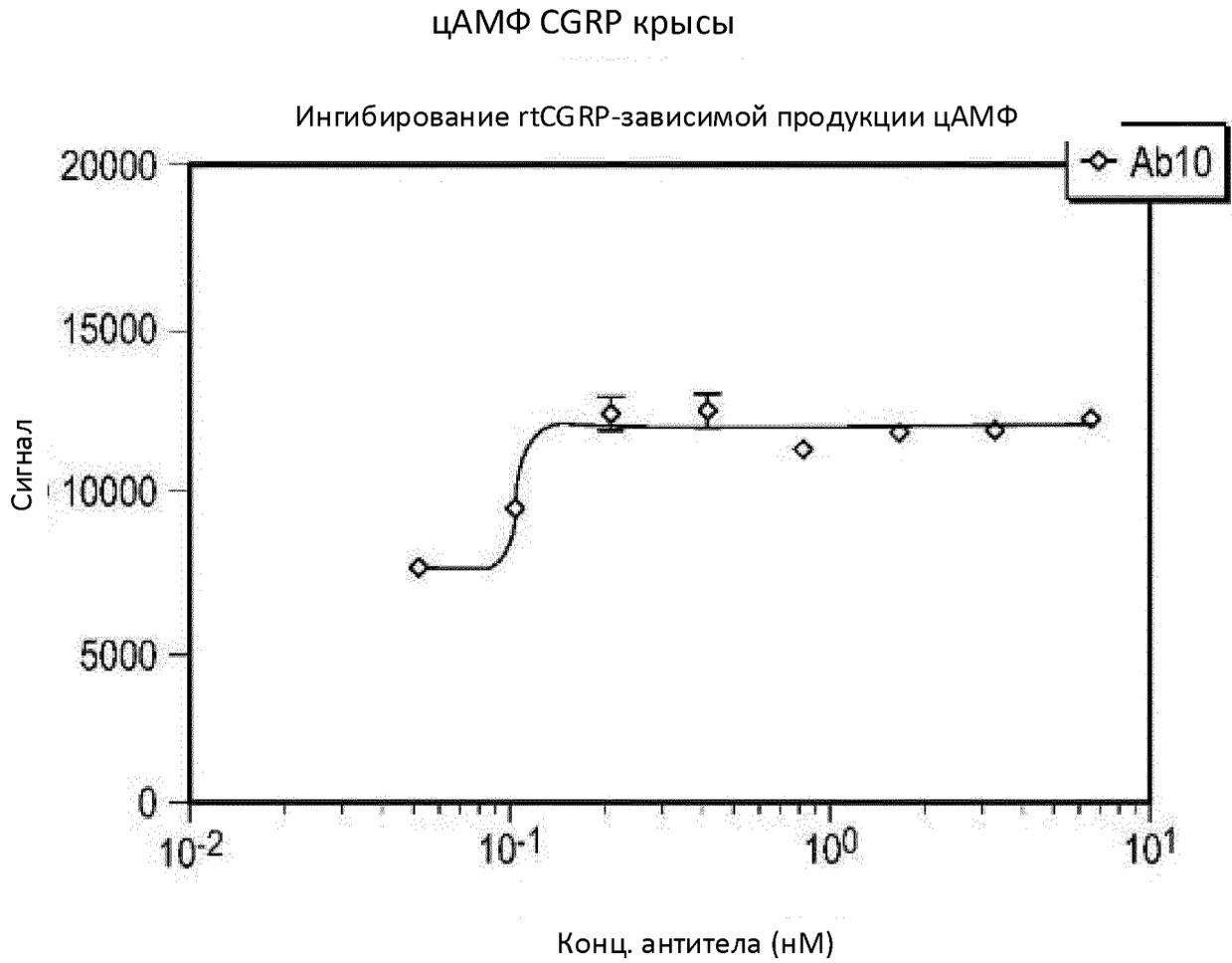
Ингибирование rtCGRP-зависимой продукции цАМФ



	IC50 (нМ)
Ab9	62

Фиг. 33

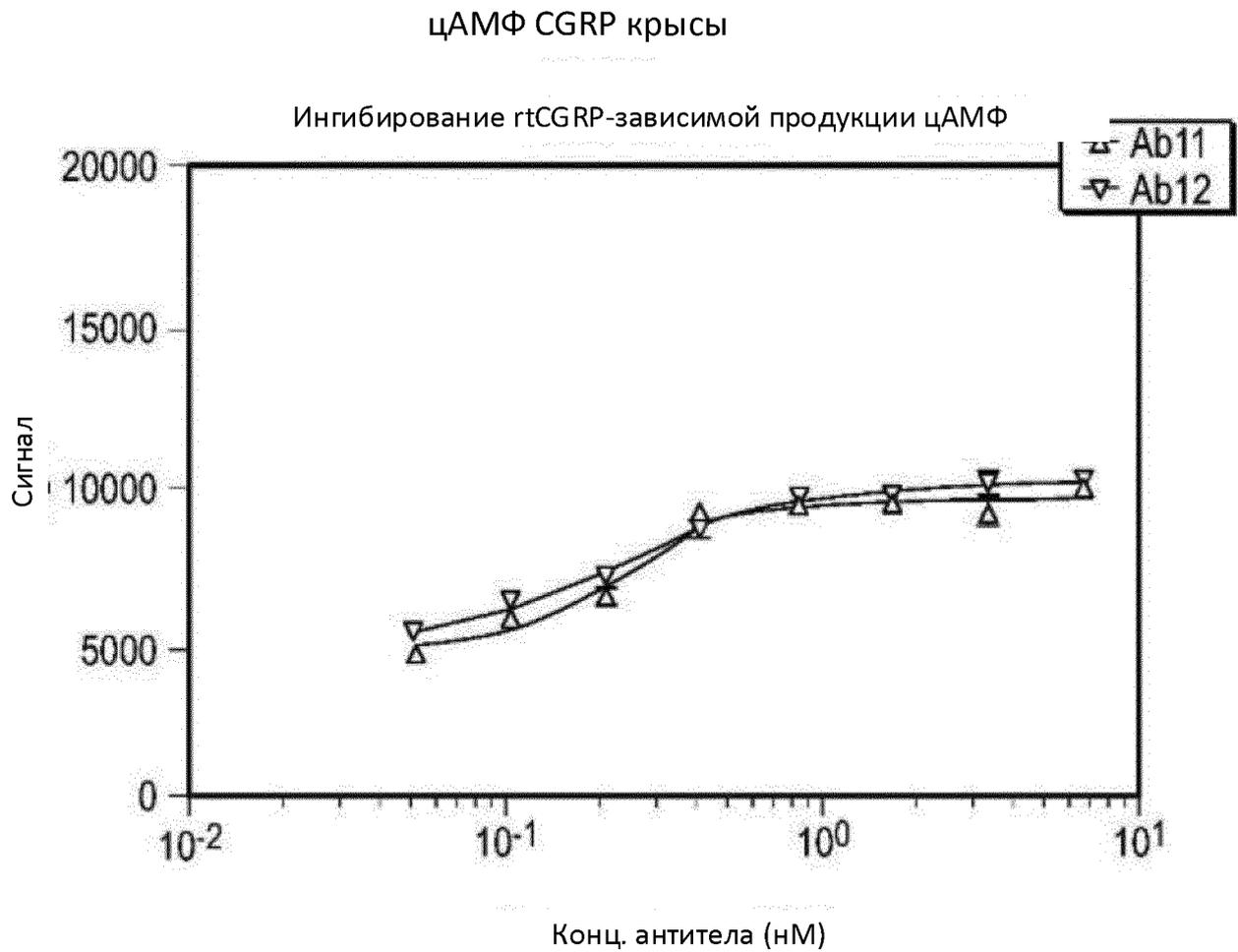
62/70



	IC50 (пМ)
Ab10	105

Фиг. 34

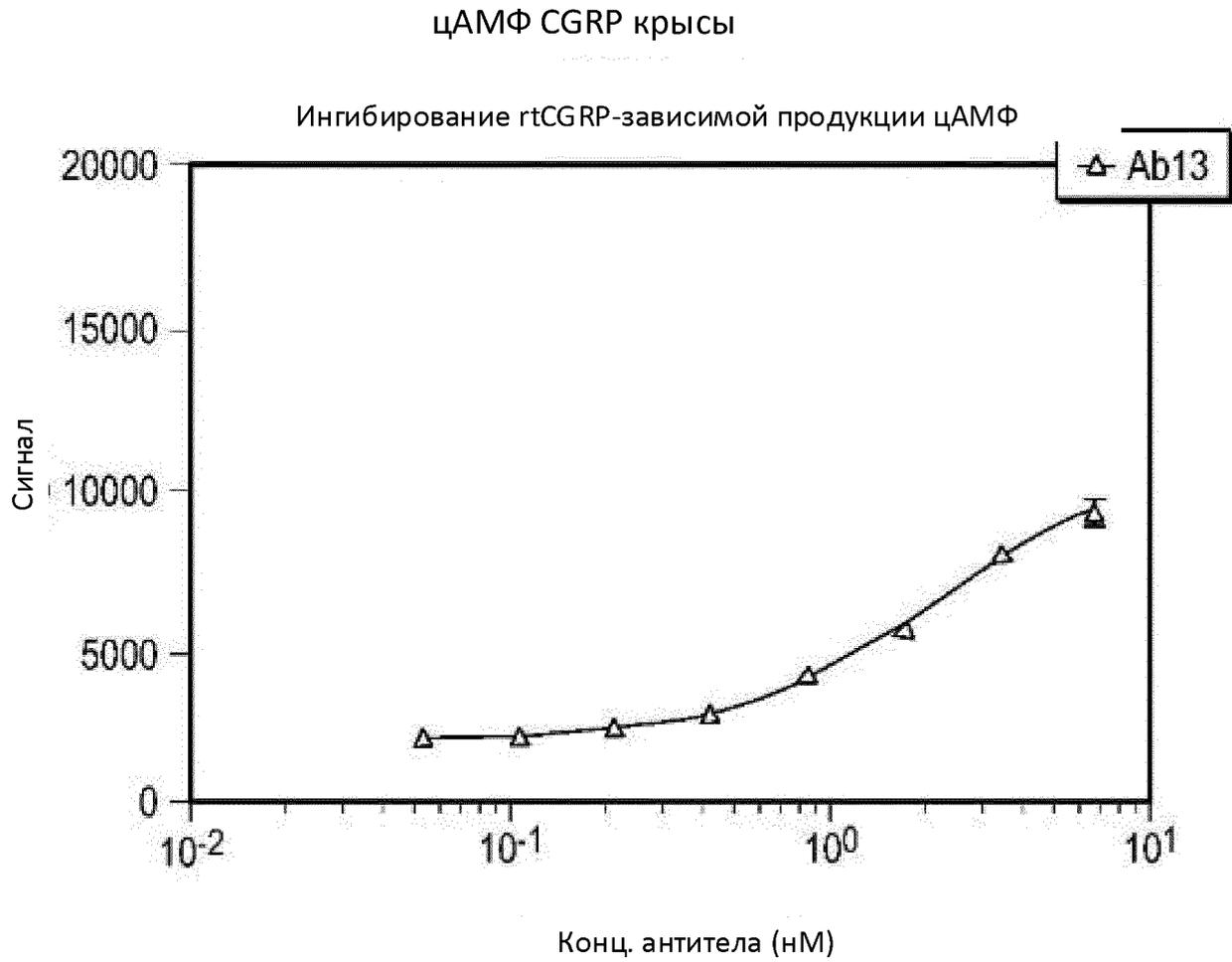
63/70



	IC50 (нМ)
Ab11	239
Ab12	236

Фиг. 35

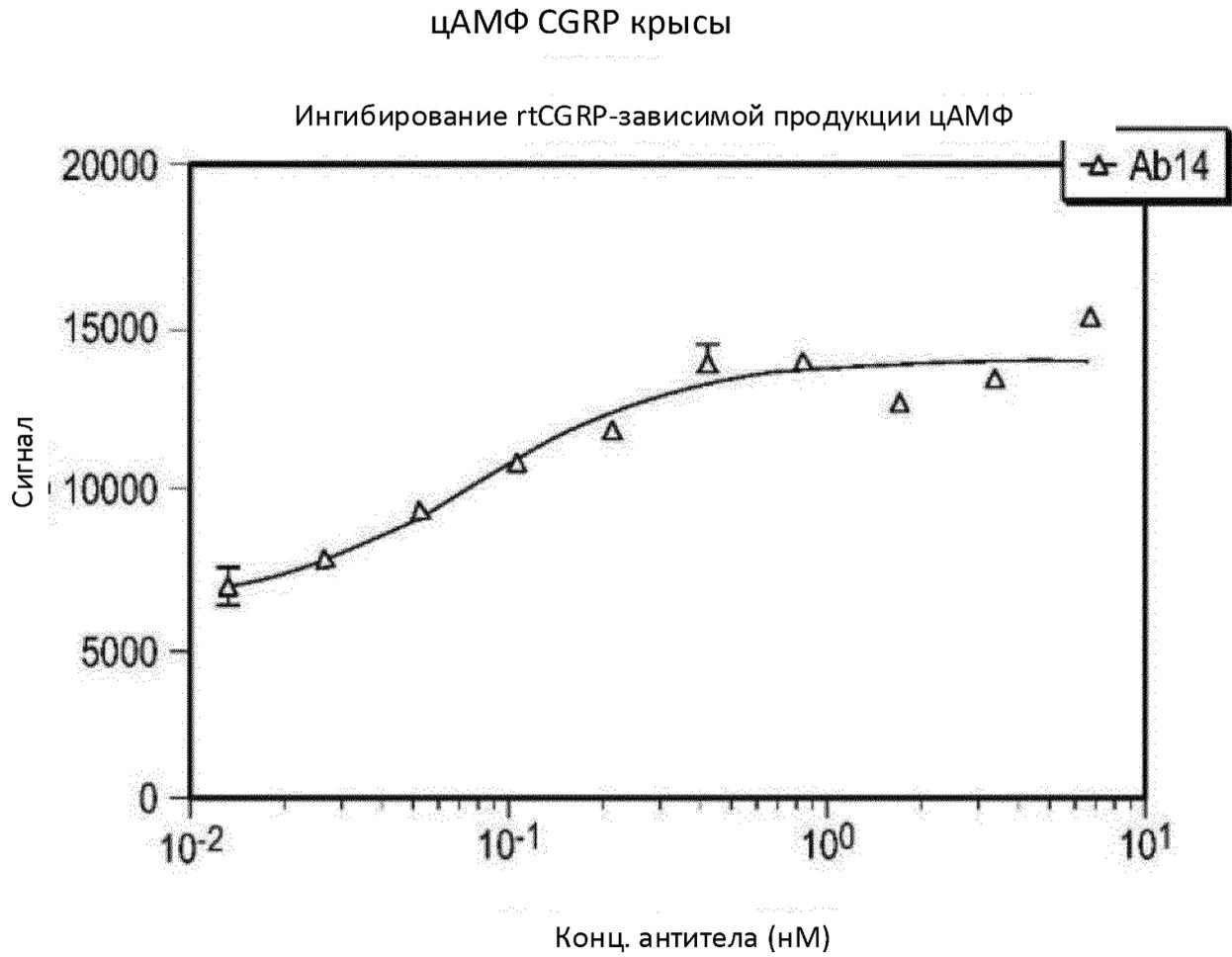
64/70



	IC50 (пМ)
Ab13	2036

Фиг. 36

65/70



	IC50 (нМ)
Ab14	81

Фиг. 37

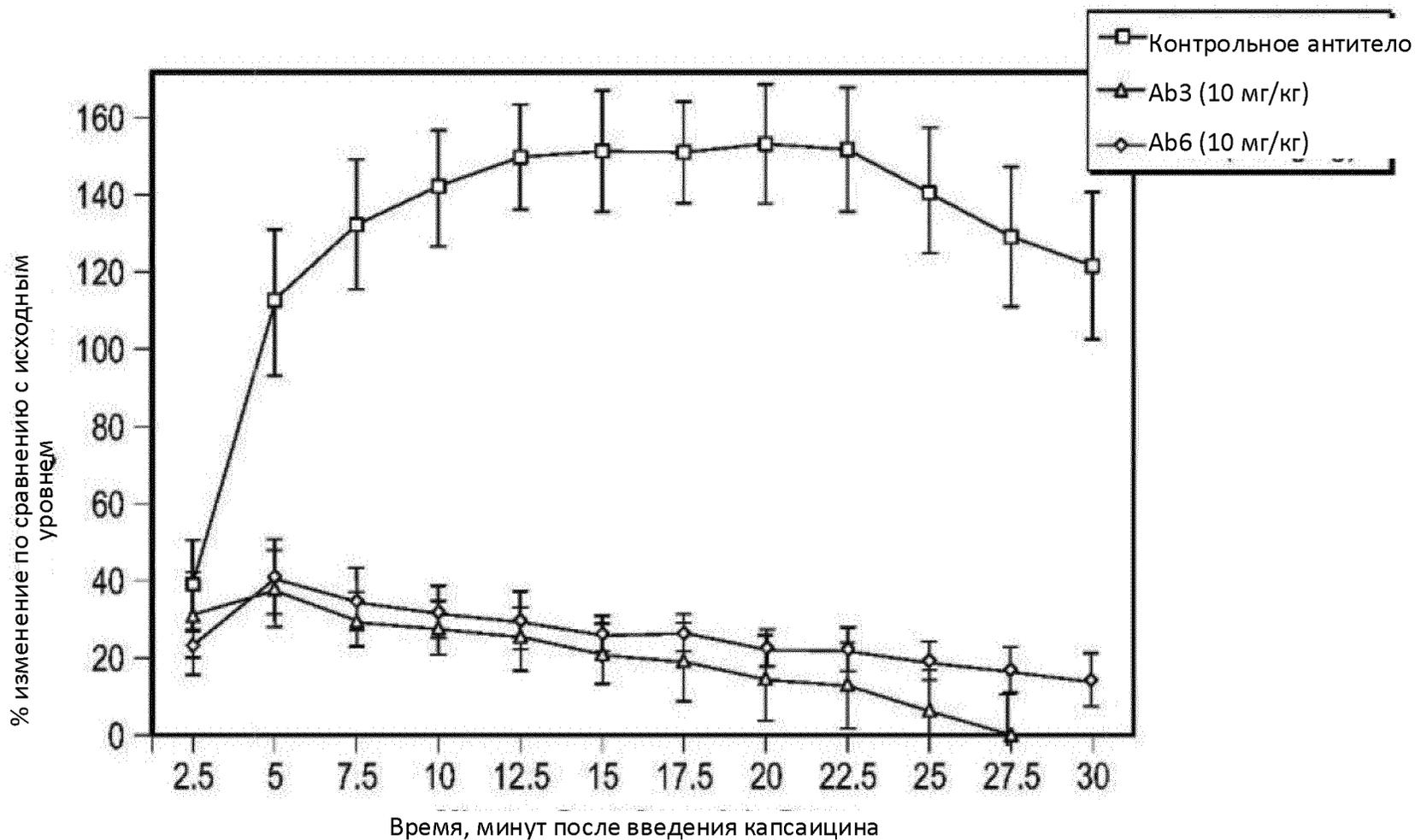
66/70

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

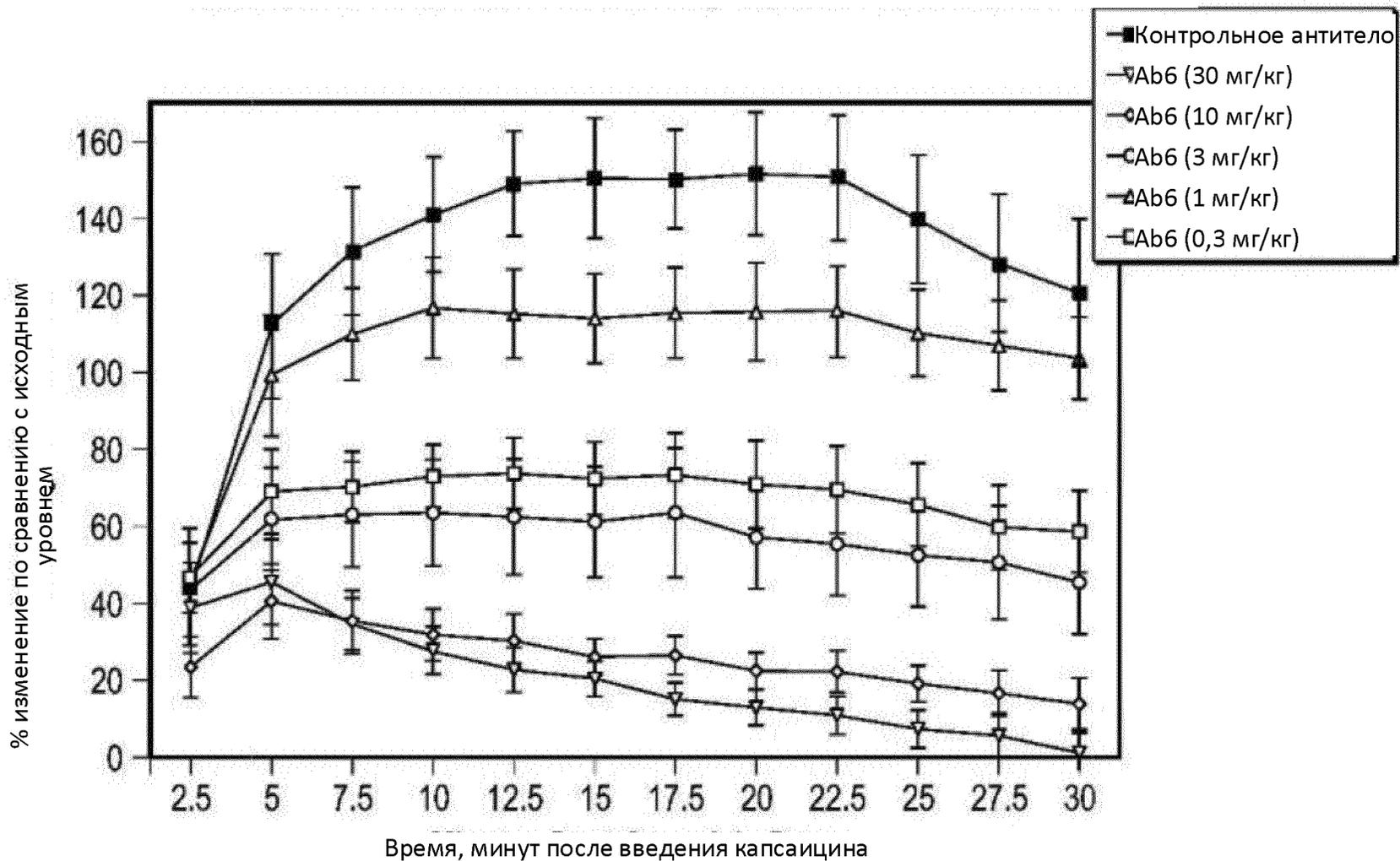
Фиг. 38

Снижение расширения сосудов после введения капсаицина



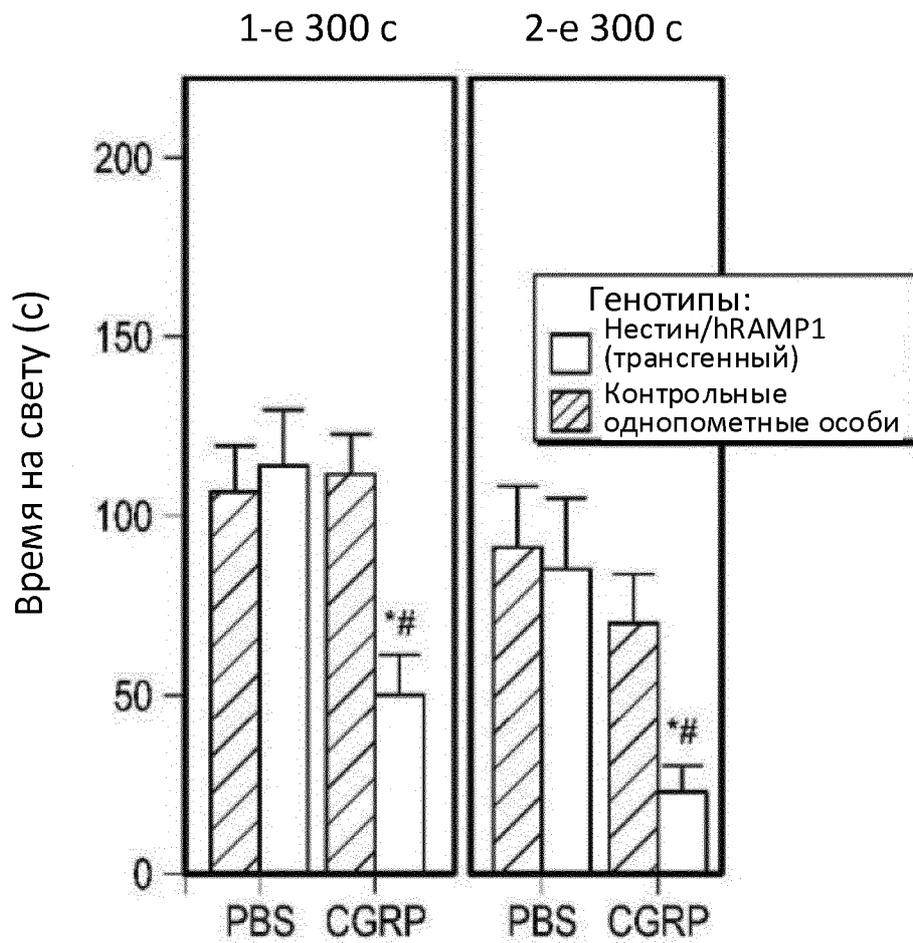
Фиг. 39

Снижение расширения сосудов после введения капсаицина

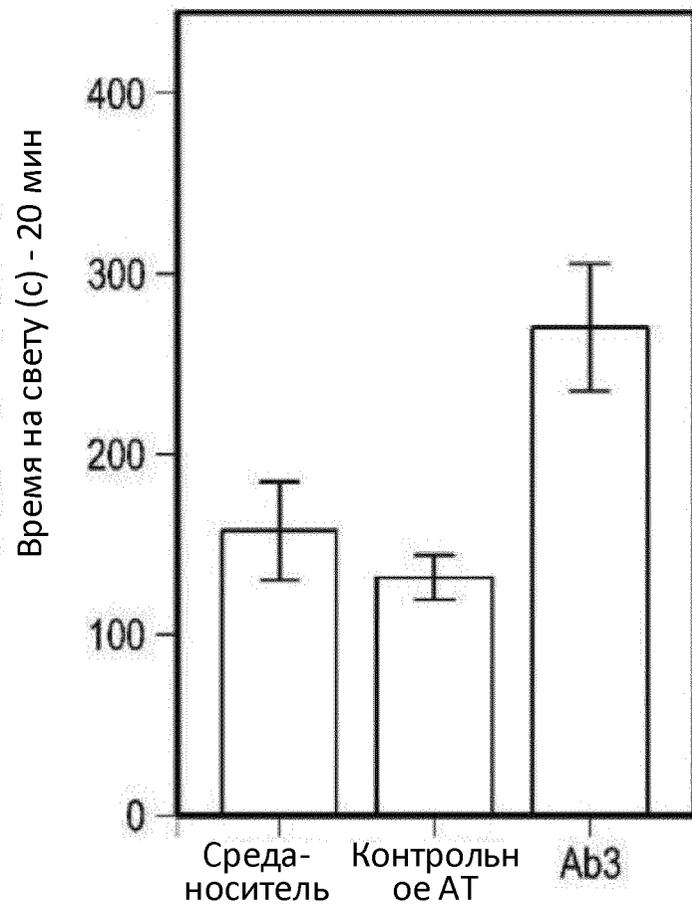
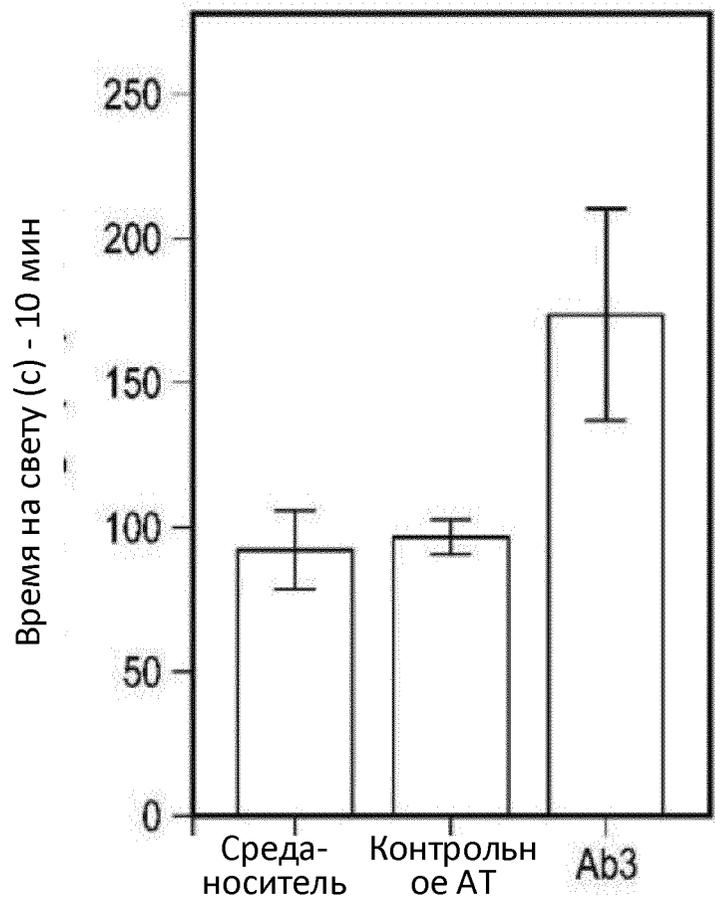


Фиг. 40

69/70



Фиг. 41



Фиг. 42

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 67858-730303	FOR FURTHER ACTION	see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.
International application No. PCT/US2012/038875	International filing date (<i>day/month/year</i>) 21 MAY 2012 (21.05.2012)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 20 MAY 2011 (20.05.2011)
Applicant ALDERBIO HOLDINGS LLC et al		

This International search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 5 sheets.

It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. **Basis of the report**

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

the international application in the language in which it was filed

a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. **Unity of invention is lacking** (See Box No. III)

4. With regard to the **title**,

the text is approved as submitted by the applicant.

the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

the text is approved as submitted by the applicant.

the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the drawings,

a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. 42

as suggested by the applicant.

as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.

as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.

b. none of the figure is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2012/038875

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of :

a. a sequence listing filed or furnished

- on paper
 in electronic form

b. time of filing or furnishing

- contained in the international application as filed
 filed together with the international application in electronic form
 furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 1-7, 12-74
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 1-7 and 12-74 pertain to methods for treatment of the human body by therapy, and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2. Claims Nos.: 14, 15, 20, 30-35, 37-40, 49-65, 68
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
Claims 14, 15, 20, 30-35, 37-40, 49-65, and 68 are unclear, since they either directly or indirectly refer to one of claims which are not drafted in accordance with PCT Rule 6.4(a).
3. Claims Nos.: 12, 13, 16-19, 21-29, 36, 41-48, 66, 67, 69-74
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*A61K 39/395(2006.01)i, C07K 16/28(2006.01)i, G01N 33/53(2006.01)i, A61P 27/02(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i*

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 39/395

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: photophobia, anti-CGRP antibody, light aversion, nestin/Ramp1, migraine

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ANA RECOBER et al. 'Role of calcitonin gene-related peptide in light-aversive behavior: implications for migraine' The Journal of Neuroscience, 2009, Vol. 29, No. 27, pp. 8798-8804, ISSN 0270-6474. See abstract; p. 8800, right-column - p. 8801, left-column; discussion.	8-11
Y	WO 2007-076336 A1 (ELI LILLY AND COMPANY) 05 July 2007 See claim 1; pp. 5 and 12.	8-11
Y	ANDREW F. RUSSO et al. 'A potential preclinical migraine model: CGRP-sensitized mice' Molecular and Cellular Pharmacology, 2009, Vol. 1, No. 5, pp. 264-270, ISSN 1938-1247. See abstract; figure 2.	8-11
A	J. ZELLER et al. 'CGRP function-blocking antibodies inhibit neurogenic vasodilatation without affecting heart rate or arterial blood pressure in the rat' British Journal of Pharmacology, 2008, Vol. 155, No. 7, pp. 1093-1103, ISSN 0007-1188. See abstract; results.	8-11

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 NOVEMBER 2012 (26.11.2012)

Date of mailing of the international search report

28 NOVEMBER 2012 (28.11.2012)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan
City, 302-701, Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Choi Sung Hee

Telephone No. 82-42-481-8740



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2012/038875

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007-076336 A1	05.07.2007	None	