



등록특허 10-2274964



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년07월09일  
(11) 등록번호 10-2274964  
(24) 등록일자 2021년07월02일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 39/395* (2006.01) *A61K 31/405* (2006.01)  
*A61K 39/00* (2006.01) *C07K 16/18* (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
*A61K 39/395* (2013.01)  
*A61K 31/405* (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2016-7029438
- (22) 출원일자(국제) 2015년03월20일  
심사청구일자 2020년02월14일
- (85) 번역문제출일자 2016년10월21일
- (65) 공개번호 10-2016-0147755
- (43) 공개일자 2016년12월23일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/021887
- (87) 국제공개번호 WO 2015/143409  
국제공개일자 2015년09월24일

(30) 우선권주장  
61/968,897 2014년03월21일 미국(US)  
(뒷면에 계속)

## (56) 선행기술조사문헌

WO2007054809 A2\*

Cephalagia, 제34권제7호, 483-492  
면(2013.12.23. Epub, 초록)\*

Headache, 제53권, 1230-1242면(2013)\*

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

전체 청구항 수 : 총 31 항

심사관 : 이수정

## (54) 발명의 명칭 칼시토닌 유전자-관련 펩티드에 대한 길항제 항체 및 그의 사용 방법

**(57) 요약**

본 발명은 항-CGRP 길항제 항체 투여에 의해 CGRP 관련된 장애 예컨대 혈관운동 증상 및/또는 두통 (예를 들면, 편두통, 군발성 두통, 및 긴장성 두통)의 예방 또는 치료 방법을 특징으로 한다. 개시된 방법에서 사용하기 위한 조성물이 또한 제공된다. 길항제 항체 G1 및 CGRP에 관련된 G1로부터 유도된 항체가 또한 기재된다.

**대 표 도** - 도1

Fab	K <sub>D</sub> (nM)	K <sub>D</sub> (nM)	K <sub>D</sub> (nM)	K <sub>D</sub> (들여변이/모)									
				P27A	V28A	P29A	T30A	N31A	V32A	G33A	S34A	K35A	F37A
1-37(WT)	19.37 <sup>a</sup>	23.37 <sup>a</sup>		1.0	1.0	26	7	9	41	1256	69	4	1598
7E9	1.0	1.1±0.8	0.74±0.03	1.0	1.0	9	2.2	3	5	496	26	3	2537
8B6	1.1	1.5±1.2	0.43±0.08	1.0	1.0	9	4	4	11	36	82	13	2142
10A8	2.1	2.4±1.4	1.0±0.2	1.0	1.0	9	4	4	11	36	82	13	2142
7B11	4.4	10±7	3.4±0.4	1.1	1.0	7	4	5	8	86	18	1.4	439
6B2	9.3	7.8±0.2	8.5±0.5	0.9	1.0	1.0	0.8	4	11	14	0.5	1.0	
4901	60.5	52±12	296±115	0.8	0.8	0.2	0.2	0.3	0.9	1.3	0.8	0.3	
14E10	79.7	91±3	117.4±0.7	0.8	0.8	11	3	18	2	1	3	0.4 <sup>b</sup>	
9B8	84.7	76±20	96±28	0.8	0.8	0.6	0.6	0.7	0.6	1.3	4	0.4 <sup>b</sup>	
13C2	94.4	86±13	137±3	0.7	0.7	0.5	0.4	0.6	0.2	0.9	1.1	0.4 <sup>b</sup>	
14A9	148.4	219±114	246±20	0.8	0.7	0.7	0.5	0.8	0.7	1.6	1.3	6	
6D5	209.9	207±26	378±22	0.8	0.7	0.5	0.4	0.6	0.5	3	1.1	5	
1C3	296.4	223±51	430±73	0.8	0.8	0.6	0.4	0.6	0.6	1.1	1.1	5	

(52) CPC특허분류

*C07K 16/18* (2013.01)  
*A61K 2039/505* (2013.01)  
*A61K 2300/00* (2013.01)  
*C07K 2317/24* (2013.01)  
*C07K 2317/34* (2013.01)  
*C07K 2317/565* (2013.01)  
*C07K 2317/76* (2013.01)  
*C07K 2317/92* (2013.01)  
*C07K 2317/94* (2013.01)

(72) 발명자

**스턴, 헨리**

미국 94062 캘리포니아주 우드사이드 스카이라인  
블러바드 13060

**창, 마이클**

미국 94028 캘리포니아주 포틀라 밸리 쇼니 패스  
135

---

(30) 우선권주장

62/083,809 2014년11월24일 미국(US)  
62/119,778 2015년02월23일 미국(US)

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

대상체에서 편두통형 두통의 치료 또는 발생빈도 감소를 위한 제약 조성물로서, 칼시토닌 유전자-관련 웨타이드(CGRP) 경로를 억제하는 단클론성 항체의 매달 용량을 포함하고, 피하로 투여되며, 상기 단클론성 항체의 매달 투여되는 양은 225 mg이고, 상기 단클론성 항체는 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열식별번호: 12에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 포함하는, 제약 조성물.

#### 청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 편두통형 두통이 만성적 편두통형 두통인, 제약 조성물.

#### 청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 편두통형 두통이 간헐적 편두통형 두통인, 제약 조성물.

#### 청구항 4

제 1 항에 있어서, 편두통형 두통의 발생빈도가 상기 단클론성 항체의 단일 투여 후 적어도 7 일 동안 감소되는, 제약 조성물.

#### 청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 단클론성 항체의 투여 이후 상기 대상체에 의해 겪는 매달 편두통형 두통 시간이 상기 대상체에서 사전-투여 수준으로부터 40 시간 이상 감소되는, 제약 조성물.

#### 청구항 6

제 1 항에 있어서, 상기 단클론성 항체의 투여 이후 상기 대상체에 의해 겪는 매달 편두통형 두통 일이 상기 대상체에서 사전-투여 수준으로부터 3 일 이상 감소되는, 제약 조성물.

#### 청구항 7

제 1 항에 있어서, 상기 단클론성 항체의 투여 이후 상기 대상체에 의해 겪는 매달 편두통형 두통 시간이 상기 대상체에서 사전-투여 수준에 비해 25% 이상 감소되는, 제약 조성물.

#### 청구항 8

제 1 항에 있어서, 상기 단클론성 항체의 양을 포함하는 예비 충전된 주사기를 이용하여 투여되는, 제약 조성물.

#### 청구항 9

제 1 항에 있어서, 상기 단클론성 항체가 적어도 150 mg/mL의 농도로 제형화되는, 제약 조성물.

#### 청구항 10

제 1 항에 있어서, 상기 단클론성 항체가 2 mL 미만의 용적으로 투여되는, 제약 조성물.

#### 청구항 11

제 1 항에 있어서, 상기 단클론성 항체와 동시에 또는 순차적으로 투여되는 제2 제제를 포함하는, 제약 조성물.

### 청구항 12

제 11 항에 있어서, 상기 제2 제제가 5-HT1 작용제, 트립탄, 맥각 알칼로이드, 및 비-스테로이드 항-염증성 약물로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 제약 조성물.

### 청구항 13

제 11 항에 있어서, 상기 대상체에 의한 상기 제2 제제의 매달 사용은 상기 단클론성 항체의 투여 이후 적어도 15% 감소되는, 제약 조성물.

### 청구항 14

제 11 항에 있어서, 상기 제2 제제가 트립탄인, 제약 조성물.

### 청구항 15

제 1 항에 있어서, 상기 대상체가 인간인, 제약 조성물.

### 청구항 16

제 1 항에 있어서, 상기 단클론성 항체가 인간의 것이거나 인간화된 것인, 제약 조성물.

### 청구항 17

대상체에서 편두통형 두통의 치료 또는 발생빈도 감소를 위한 제약 조성물로서,

칼시토닌 유전자-관련 웨타이드(CGRP) 경로를 억제하는 단클론성 항체를 포함하고,

상기 단클론성 항체는 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열식별번호: 12에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 포함하며,

상기 단클론성 항체는 1 개월 간격으로 225 mg의 용량으로 피하 투여되고,

상기 단클론성 항체는 적어도 150 mg/mL의 농도로 제형화되며,

이로 인하여 대상체에서 두통을 치료하거나 그 발생빈도를 감소시키는 것인,

### 청구항 18

제 17 항에 있어서, 상기 대상체가 인간인, 제약 조성물.

### 청구항 19

제 17 항에 있어서, 상기 단클론성 항체가 인간의 것이거나 인간화된 것인, 제약 조성물.

### 청구항 20

제 17 항에 있어서, 상기 편두통형 두통이 만성적 편두통형 두통인, 제약 조성물.

### 청구항 21

제 17 항에 있어서, 상기 편두통형 두통이 간헐적 편두통형 두통인, 제약 조성물.

### 청구항 22

제 17 항에 있어서, 상기 단클론성 항체의 양을 포함하는 예비 충전된 주사기를 이용하여 투여되는, 제약 조성물.

### 청구항 23

제 17 항에 있어서, 상기 단클론성 항체가 1.5 mL의 용적으로 투여되는, 제약 조성물.

### 청구항 24

대상체에서 편두통형 두통의 치료 또는 발생빈도 감소를 위한 제약 조성물로서,

칼시토닌 유전자-관련 웨타이드(CGRP) 경로를 억제하는 단클론성 항체를 포함하고,

상기 단클론성 항체는 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열식별번호: 12에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 포함하며,

상기 단클론성 항체는 1 개월 간격으로 225 mg의 용량으로 피하 투여되고,

상기 단클론성 항체는 2 mL 미만의 용적으로 투여되며,

이로 인하여 대상체에서 두통을 치료하거나 그 발생빈도를 감소시키는 것인, 제약 조성물.

#### 청구항 25

제 24 항에 있어서, 상기 단클론성 항체가 적어도 150 mg/mL의 농도로 제형화되는, 제약 조성물.

#### 청구항 26

제 24 항에 있어서, 상기 대상체가 인간인, 제약 조성물.

#### 청구항 27

제 24 항에 있어서, 상기 단클론성 항체가 인간의 것이거나 인간화된 것인, 제약 조성물.

#### 청구항 28

제 24 항에 있어서, 상기 편두통형 두통이 만성적 편두통형 두통인, 제약 조성물.

#### 청구항 29

제 24 항에 있어서, 상기 편두통형 두통이 간헐적 편두통형 두통인, 제약 조성물.

#### 청구항 30

제 24 항에 있어서, 상기 단클론성 항체의 양을 포함하는 예비 충전된 주사기를 이용하여 투여되는, 제약 조성물.

#### 청구항 31

제 24 항에 있어서, 상기 단클론성 항체가 1.5 mL의 용적으로 투여되는, 제약 조성물.

#### 청구항 32

삭제

#### 청구항 33

삭제

#### 청구항 34

삭제

#### 청구항 35

삭제

#### 청구항 36

삭제

#### 청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 교차참조

[0002] 본 출원은 2014년 3월 21일 출원된 미국 특허 가출원 번호 61/968,897, 2014년 11월 24일 출원된 미국 특허 가출원 번호 62/083,809 및 2015년 2월 23일 출원된 미국 특허 가출원 번호 62/119,778의 우선권을 주장하고, 이들 출원은 본원에서 참고로 그 전체를 다목적으로 편입된다.

### 배경 기술

[0003] CGRP (칼시토닌 유전자-관련 펩타이드)는 37 아미노산 뉴로펩타이드이고, 칼시토닌, 아드레노메들린 및 아밀린을 포함하는 펩타이드의 패밀리에 속한다. 인간에서, 2개 형태의 CGRP ( $\alpha$ -CGRP 및  $\beta$ -CGRP)이 존재하고 유사한 활성을 갖는다. 이들은 3개의 아미노산에 의해 다양하고 차별적인 분포를 나타낸다. 적어도 2 CGRP 수용체 하위 유형은 또한 차별적인 활성을 설명할 수 있다. CGRP는 중추신경계에서 신경전달물질이고, 그리고 CGRP-함유 뉴런이 혈관과 밀접하게 관련되는 주변에서 강력한 혈관확장제임을 보여주고 있다. CGRP-매개 혈관확장은, 혈장의 분출 및 미세혈관의 혈관확장을 초래하고 그리고 편두통에 존재하는 다수 사례의 일부로서, 신경성 염증에 또한 관련된다.

[0004] CGRP는 혈관운동 증상에 대해 그 가능한 관계에 주목되고 있다 (Wyon et al. Scand. J. Urol. Nephrol. 35: 92-96 (2001); Wyon et al. Menopause 7(1):25-30 (2000)). 혈관운동 증상 (VMS), 예컨대 열감 및 식은땀은, 천연 또는 수술로-유도된 폐경 이후 모든 여성의 60% 내지 80%에서 발생하는, 폐경에 관련된 가장 흔한 증상이다. 열감은 쇠퇴하는 성스테로이드에 대한 중추신경계 (CNS)의 적응성 반응이 되기 쉽다 (Freedman Am. J. Human Biol. 13:453-464 (2001)). 현재까지, 홍조에 대한 가장 효과적인 요법은, 에스트로겐 및/또는 일부 프로게스틴을 포함하는, 호르몬-기반 치료이다. 호르몬 치료는 홍조 완화에 효과적일 수 있지만, 모든 여성에 적절하지 않다. 관측된 심리적 및 정서 증상, 예컨대 신경파민, 피로, 자극감수성, 불면증, 우울증, 기억 상실, 두통, 불안, 신경파민 또는 집중무능력은 열감 및 식은땀이 뒤따르는 수면 결핍에 의해 야기된다고 여겨진다 (Kramer et al., In: Murphy et al., 3.sup.rd Int'l Symposium on Recent Advances in Urological Cancer Diagnosis and Treatment-Proceedings, Paris, France: SCI: 3-7 (1992)).

[0005] 남성은 또한 스테로이드 호르몬 (안드로겐) 희수가 뒤따르는 열감을 경험한다. 이것은 나이-연관된 안드로겐 쇠퇴의 경우 (Katovich, et al., Proceedings of the Society for Experimental Biology & Medicine, 1990, 193(2): 129-35) 뿐만 아니라 전립선암의 치료와 연관된 호르몬 결핍의 극단적인 경우 (Berendsen, et al., European Journal of Pharmacology, 2001, 419(1): 47-54) 사실이다. 이들 환자의 3분의 1만큼은 유의미한 불

안 및 불편을 일으키기 충분할만큼 심각한 지속적 및 빈번한 증상을 경험할 것이다.

[0006]

CGRP는, 편두통 (조짐 있거나 또는 없이) 및 군발성 두통을 포함하는, 다른 혈관운동 증상, 예컨대 혈관 두통의 형태의 병리학에서 연루되는 강력한 혈관확장제이다. Durham, N. Engl. J. Med. 350:1073-1075, 2004. 외부 경정맥에서 CGRP의 혈청 수준은 편두통형 두통 동안 환자에 있어서 상승된다. Goadsby et al., Ann. Neurol. 28:183-7, 1990. CGRP가 편두통에서 원인이 되는 역할을 가짐을 제안하는, 조짐 없이 편두통으로 고통받는 환자에 있어서 인간  $\alpha$ -CGRP의 정맥내 투여는 두통 및 편두통을 유발하였다. Lassen et al., Cephalalgia 22:54-61, 2002.

[0007]

편두통에서 가능한 CGRP 관여는, CGRP (예를 들면, 수마트립탄)의 방출을 억제하는, CGRP 수용체 (예를 들면, 디펩타이드 유도체 BIBN4096BS (Boehringer Ingelheim); CGRP(8-37))에서 길항하는, 또는 수용체-관련된 단백질 중 하나 이상, 예컨대, 수용체 활성 막 단백질 (RAMP) 또는 수용체 성분 단백질 (RCP) (이 둘 모두는 CGRP의 그 수용체에 대한 결합에 영향을 준다)과 상호작용하는 다수의 화합물의 개발 및 시험에 기반이 되고 있다. Brain, S. et al., Trends in Pharmacological Sciences 23:51-53, 2002. 알파-2 아드레노셉터 하위유형 및 아데노신 A1 수용체는 또한 CGRP 방출 및 삼차 활성화를 제어 (억제)한다 (Goadsby et al., Brain 125:1392-401, 2002). 인간에 있어서 신경성 혈관확장 및 삼차 통각을 억제하기 위해 보여지는, 아데노신 A1 수용체 작용제 GR79236 (metrafadil)은 또한 항-편두통 활성을 가질 수 있다 (Arulmani et al., Cephalalgia 25:1082-1090, 2005; Giffin et al., Cephalalgia 23:287-292, 2003.)

[0008]

상기 이론의 반박은, 신경성 염증 (예를 들면, 타카카닌 NK1 수용체 길항제) 또는 삼차 활성화 (예를 들면, 5HT<sub>1D</sub> 수용체 작용제)를 베타적으로 억제하는 화합물 치료가 편두통용 급성 치료로서 상대적으로 효과없는 것으로 보여지는 관찰이고, 일부 조사자는 CGRP의 방출 억제가 효과적인 항-편두통 치료의 일차 작용 기전인지 여부에 의문을 제기한다. Arulmani et al., Eur. J. Pharmacol. 500:315-330, 2004.

[0009]

편두통은 두통의 심각한, 간헐적 공격 및 관련된 특성을 특징으로 하는 복잡한, 공통의 신경적 증상이고, 이는 메스꺼움, 구토, 빛, 소리 또는 운동에 대한 민감성을 포함할 수 있다. 일부 환자에서, 두통은 조짐에 선행되거나 또는 동반된다. 두통 통증은 중증일 수 있고 또한 특정 환자에서 편측성일 수 있다.

[0010]

편두통 발병은 일상 생활에 분열성이다. 미국 및 서유럽에서, 편두통 환자의 전반적인 유병률은 일반 대중의 11% (6% 남성; 15-18% 여성)이다. 더욱이, 개인에서 공격의 중위 빈도는 1.5/개월이다. 증상을 완화 또는 경감하기 위해 이용가능한 다수의 치료가 있어도, 예방적 요법이 매달 편두통의 3-4 초과의 공격을 갖는 환자에 권고된다. Goadsby et al., New Engl. J. Med. 346(4): 257-275, 2002.

[0011]

환자 중에서 편두통 및 반응내 가변성을 치료하는데 사용되는 다양한 약리학적 조치는 이러한 장애의 다양한 종류의 치료이다. 따라서, 세로토닌성, 뿐만 아니라 아드레날린, 노르아드레날린 및 도파민작용성 활성을 나타내는, 맥각 알칼로이드 (예를 들면, 에르고타민, 디하이드로에르고타민, 메티세르지드)로서 상기 상대적으로 비-선택적 약물은 편두통을 치료하는데 80년 넘게 사용되고 있다. 다른 치료는 아편제 (예를 들면, 옥시코돈) 및  $\beta$ -아드레날린 길항제 (예를 들면, 프로프라놀롤)를 포함한다. 일부 환자, 보통 약한 증상을 갖는 환자는 비-처방전 요법 예컨대 하나 이상의 비-스테로이드 항-염증제 (NSAIDs), 예컨대 아스피린, 아세트아미노펜 및 카페인의 조합 (예를 들면, Excedrin® Migraine)으로 그 증상을 제어할 수 있다.

[0012]

더욱 최근에, 일부 편두통 환자는, 전압-의존적 나트륨 채널 및 특정 글루타메이트 수용체 (AMPA-카이네이트)를 차단하고, GABA-A 수용체 활성을 강력하게하고, 그리고 탄산탈수효소를 차단하는 항경련제인 토피라메이트로 치료되고 있다. 일부 환자에 있어서, 세로토닌 5HT-1B/1D 및/또는 5HT-1a 수용체 작용제, 예컨대 수마트립탄의 상대적으로 최근의 성공은 연구자가 장애의 세로토닌성 병인을 제안하게 되었다. 불행하게도, 일부 환자가 상기 치료에 잘 반응하여도, 다른 환자는 그 효과에 상대적으로 내성이 있다.

[0013]

아민성 뇌간 핵에서 이온 채널의 기능이상이 장애의 기저가 되는 것으로 간주되지만, 그러나, 편두통의 정확한 병리생리학은 아직 잘 이해되지 않는다. 편두통의 한 형태, 가족성 편마비성 편두통은 전압 개폐 P/Q-유형 칼슘 채널의  $\alpha 1$  하부단위에서 미스센스 돌연변이와 관련된다고 보여지고, 그리고 다른 이온-채널 돌연변이가 또한 환자의 다른 집단에서 발견될 것이 고려되기 쉽다. 혈관의 팽창이 편두통의 통증 증상에 관련되고 증상을 악화시켜도, 상기 신경혈관 질병은 증상의 원인이라기 보다는 결과인 것으로 이제 생각된다. 전반적으로, 감각 유입을 조절하는 뇌간 경로의 기능이상은 편두통의 통합적 특성인 것으로 고려된다. Goadsby, P.J. et al., New Engl. J. Med. 346(4): 257-275, 2002.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

#### [0014] 간단한 개요

일부 측면에서, 본원에 개시된 본 발명은 혈관운동 증상의 치료 또는 예방을 위해 항-CGRP 길항제 항체 및 항-CGRP 길항제 항체의 사용 방법에 관한 것이다. 혈관운동 증상의 예, 예컨대 열감은 본원에 제공된다. 일부 경우에서, 항-CGRP 길항제 항체는 두통, 예컨대 조짐이 있거나 또는 없이 편두통, 편마비성 편두통, 군발성 두통, 편두통성 신경통, 만성적 두통, 긴장성 두통, 및 다른 의학적 상태 (예컨대 종양으로 인한 두개골내 감염 또는 증가된 압력)에서 비롯되는 두통 치료 또는 예방을 위해 사용된다.

### 과제의 해결 수단

[0016] 일 측면에서, 본 발명은 하기 개체에게 유효량의 항-CGRP 길항제 항체를 투여하는 것을 포함하는 개체에서 적어도 하나의 혈관운동 증상 치료 또는 예방 방법을 제공한다.

[0017] 일 측면에서, 본 발명은 하기 개체에게 유효량의 항-CGRP 길항제 항체를 투여하는 것을 포함하는 개체에서 두통 (예를 들면, 편두통 및 군발성 두통) 치료 또는 예방 방법을 제공한다.

[0018] 또 다른 측면에서, 본 발명은 하기 개체에게 유효량의 항-CGRP 길항제 항체를 투여하는 것을 포함하는 개체에서 두통 (예를 들면, 편두통 및 군발성 두통)의 완화, 제어, 발생빈도 감소, 또는 발달 또는 진행 지연 방법을 제공한다.

[0019] 일 측면에서, 본 발명은 대상체에서 적어도 하나의 혈관운동 증상 및/또는 두통의 치료 또는 발생빈도 감소 방법을 제공한다. 일 구현예에서, 상기 방법은 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체 (예를 들면, 단클론성 항-CGRP-길항제 항체)의 양을 복수의 일에 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 복수의 일에 투여된 상기 양은 1000 mg 미만이다. 일 구현예에서, 상기 방법은 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체 (예를 들면, 단클론성 항-CGRP-길항제 항체)의 양을 복수의 일에 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 복수의 일에 투여된 상기 양은 100-2000 mg 사이이다. 일부 구현예에서, 두통은 편두통형 두통 (예를 들면 만성적 편두통형 두통 또는 간헐적 편두통형 두통)이다. 일부 구현예에서, 복수의 일 중 2개는 7 일 초과 간격이다. 일부 구현예에서, 두통의 발생빈도는 단일 투여 이후 적어도 7 일 동안 감소된다. 일부 구현예에서, 제1 일에 투여된 단클론성 항체의 양은 제2 일에 투여된 단클론성 항체의 양과 상이하다 (예를 들면 초파이다). 일부 구현예에서, 대상체는 달마다 3 미만 용량 투여된다. 일부 구현예에서, 투여는 피하 투여이다. 일부 구현예에서, 투여는 정맥내 투여이다. 일부 구현예에서, 투여는 단클론성 항체의 양을 포함하는 예비 충전된 주사기 사용을 포함한다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 150 mg/mL의 농도에서 제형화된다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 2 mL 미만의 용적으로 투여된다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체의 양은 1000 mg 미만이다. 일부 구현예에서, 상기 투여 이후 대상체에 의해 겪는 매달 두통 시간은 대상체에서 사전-투여 수준으로부터 40 이상 시간 (예를 들면 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80 이상)만큼 감소된다. 매달 두통 시간은 60 시간 초과만큼 감소될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 투여 이후 대상체의 의해 겪는 매달 두통 시간은 대상체에서 사전-투여 수준에 비해 25% 이상 (예를 들면 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 이상)만큼 감소된다. 매달 두통 시간은 40% 이상 만큼 감소될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 투여 이후 대상체에 의해 겪는 매달 두통 일은 대상체에서 사전-투여 수준으로부터 3 이상 일 (예를 들면 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 일 이상)만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 본 방법은 추가로 상기 대상체에게 제2 제제를 단클론성 항체와 동시에 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함한다. 제2 제제는 임의의 5-HT1 작용제, 트립탄, 맥각 알칼로이드, 및 비-스테로이드 항-염증성 약물일 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 제제는 예방적으로 대상체에 의해 선택된 제제이다. 일부 구현예에서, 대상체에 의한 제2 제제의 매달 사용은 단클론성 항체의 투여 이후 적어도 15% 만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 제2 제제는 트립탄이다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 인간 또는 인간화된 단클론성 항체이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 (a) 서열식별번호: 3에서 제시된 바와 같이 CDR H1; 서열식별번호: 4에서 제시된 바와 같이 CDR H2; 서열식별번호: 5에서 제시된 바와 같이 CDR H3; 서열식별번호: 6에서 제시된 바와 같이 CDR L1; 서열식별번호: 7에서 제시된 바와 같이 CDR L2; 및 서열식별번호: 8에서 제시된 바와 같이 CDR L3을 갖는 항체; 또는 (b) 표 6에서 나타난 바와 같이 (a)에 따른 항체의 변이체를 포함한다.

[0020] 일 측면에서, 본 발명은 대상체에 의해 겪는 다수의 매달 두통 시간의 감소 방법을 제공한다. 일 구현예에서,

상기 방법은 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체의 양을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서 상기 단클론성 항체는 단회 복용 이후 적어도 20 (예를 들면 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 이상 두통 시간)만큼 매달 두통 시간의 수를 감소시키는데 효과적인 양이다. 일부 구현예에서, 매달 두통 시간의 수는 적어도 약 50 시간만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체의 양을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서 상기 단클론성 항체는 단회 복용 이후 적어도 15% (예를 들면 20%, 25%, 30%, 35%, 40% 이상)만큼 매달 두통 시간의 수를 감소시키는데 효과적인 양이다. 일부 구현예에서, 매달 두통 시간의 수는 적어도 약 30%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 항-CGRP 길항제 항체이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체의 양은 1000 mg 미만이다. 일부 구현예에서, 대상체는 달마다 3 미만 용량 투여된다. 일부 구현예에서, 투여는 피하 또는 정맥내 투여이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 적어도 150 mg/mL의 농도에서 제형화된다. 일부 구현예에서, 여기서 상기 단클론성 항체는 2 mL 미만의 용적으로 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 인간 또는 인간화된다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 (a) 서열식별번호: 3에서 제시된 바와 같이 CDR H1; 서열식별번호: 4에서 제시된 바와 같이 CDR H2; 서열식별번호: 5에서 제시된 바와 같이 CDR H3; 서열식별번호: 6에서 제시된 바와 같이 CDR L1; 서열식별번호: 7에서 제시된 바와 같이 CDR L2; 및 서열식별번호: 8에서 제시된 바와 같이 CDR L3을 갖는 항체; 또는 (b) 표 6에서 나타난 바와 같이 (a)에 따른 항체의 변이체를 포함한다.

[0021] 일 측면에서, 본 발명은 대상체에 의해 겪는 다수의 매달 두통 일의 감소 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체의 양을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서 상기 단클론성 항체는 단회 복용 이후 적어도 3 (예를 들면 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 이상 두통 일)만큼 매달 두통 일의 수를 감소시키는데 효과적인 양이다. 일부 구현예에서, 매달 두통 일의 수는 적어도 약 6 두통 일만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 항-CGRP 길항제 항체이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체의 양은 1000 mg 미만이다. 일부 구현예에서, 대상체는 달마다 3 미만 용량 투여된다. 일부 구현예에서, 투여는 피하 또는 정맥내 투여이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 적어도 150 mg/mL의 농도에서 제형화된다. 일부 구현예에서, 여기서 상기 단클론성 항체는 2 mL 미만의 용적으로 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 인간 또는 인간화된다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 (a) 서열식별번호: 3에서 제시된 바와 같이 CDR H1; 서열식별번호: 4에서 제시된 바와 같이 CDR H2; 서열식별번호: 5에서 제시된 바와 같이 CDR H3; 서열식별번호: 6에서 제시된 바와 같이 CDR L1; 서열식별번호: 7에서 제시된 바와 같이 CDR L2; 및 서열식별번호: 8에서 제시된 바와 같이 CDR L3을 갖는 항체; 또는 (b) 표 6에서 나타난 바와 같이 (a)에 따른 항체의 변이체를 포함한다.

[0022] 일 측면에서, 본 발명은, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체 (예를 들면, 항-CGRP 길항제 항체)를 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 항-두통 약물의 사용 감소 방법을 제공하고, 여기서 상기 단클론성 항체는 적어도 15% (예를 들면 20%, 25%, 30%, 35%, 40% 이상)만큼 대상체에 의해 항-두통 약물의 매달 사용을 감소시키는데 효과적인 양이다. 일부 구현예에서, 항-두통 약물은 5-HT1 작용제, 트립탄, 아편제,  $\beta$ -아드레날린 길항제, 맥각 알칼로이드, 및 비-스테로이드 항-염증성 약물 (NSAIDs)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 항-두통 약물은 트립탄이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체의 양은 1000 mg 미만이다. 일부 구현예에서, 대상체는 달마다 3 미만 용량 투여된다. 일부 구현예에서, 투여는 피하 또는 정맥내 투여이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 적어도 150 mg/mL의 농도에서 제형화된다. 일부 구현예에서, 여기서 상기 단클론성 항체는 2 mL 미만의 용적으로 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 인간 또는 인간화된다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 (a) 서열식별번호: 3에서 제시된 바와 같이 CDR H1; 서열식별번호: 4에서 제시된 바와 같이 CDR H2; 서열식별번호: 5에서 제시된 바와 같이 CDR H3; 서열식별번호: 6에서 제시된 바와 같이 CDR L1; 서열식별번호: 7에서 제시된 바와 같이 CDR L2; 및 서열식별번호: 8에서 제시된 바와 같이 CDR L3을 갖는 항체; 또는 (b) 표 6에서 나타난 바와 같이 (a)에 따른 항체의 변이체를 포함한다.

[0023] 일 측면에서, 본 발명은 CGRP 경로를 조정하는 양으로 단클론성 항체 (예를 들면, 단클론성 항-CGRP-길항제 항체)의 단회 용량을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 대상체에서 두통 (예를 들면, 편두통형 두통)의 치료 또는 발생빈도 감소 방법을 제공하고, 여기서 단클론성 항체의 상기 양은 100-2000 mg 사이이다.

[0024] 추가 구현예에서, 본 발명은 두통의 치료에 유용한 적어도 하나의 추가 제제와 조합으로 유효량의 항-CGRP 길항제 항체를 상기 개체에게 투여하는 것을 포함하는 개체에서 두통 (예를 들면, 편두통 및 군발성 두통)의 완화, 제어, 발생빈도 감소, 또는 발달 또는 진행 지연 방법을 제공한다. 상기 추가 제제는 5-HT1-유사 작용제 (및 다른 5-HT1 부위에서 작용하는 작용제), 및 비-스테로이드 항-염증성 약물 (NSAIDs)을 포함한다.

- [0025] 항-CGRP 항체와 조합으로 사용될 수 있는 5-HT1 작용제의 예는 트립탄으로서 공지된 화합물의 부류, 예컨대 수마트립탄, 콜미트립탄, 나라트립탄, 리자트립탄, 엘레트립탄, 알모트립탄, 및 프로바트립탄을 포함한다. 맥각알칼로이드 및 관련된 화합물은 5-HT 작용제 활성을 갖는 것으로 또한 공지되고 그리고 두통 예컨대 편두통을 치료하는데 사용되고 있다. 상기 화합물 중에서 에르고타민 타르트레이트, 에르고노빈 말레이트, 및 에르골로이드 메실레이트 (예를 들면, 디하이드로에르고코르닌, 디하이드로에르고크리스틴, 디하이드로에르고크립틴, 및 디하이드로에르고타민 메실레이트 (DHE 45))가 포함된다.
- [0026] 항-CGRP 항체와 조합으로 사용될 수 있는 NSAIDs의 예는 하기를 포함한다: 아스피린, 디클로페낙, 디플루시날, 에토돌락, 펜부펜, 페노프로펜, 플루페니살, 플루르바이프로펜, 이부프로펜, 인도메타신, 케토프로펜, 케토록락, 메클로페남산, 메페남산, 나부메톤, 나프록센, 옥사프로진, 페닐부타존, 피록시캄, 설린닥, 툴메틴 또는 조메피락, 사이클로옥시게나제-2 (COX-2) 저해제, 셀레콕십; 로페콕십; 멜록시캄; JTE-522; L-745,337; NS398; 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염.
- [0027] 또 다른 측면에서, 본 발명은 유효량의 항-CGRP 길항제 항체를 상기 개체에게 투여하는 것을 포함하는 개체에서 열감 완화, 제어, 발생빈도 감소, 또는 발달 또는 진행 지연 방법을 제공한다.
- [0028] 또 다른 측면에서, 본 발명은 열감의 치료에 유용한 적어도 하나의 추가 제제와 조합으로 유효량의 항-CGRP 길항제 항체를 상기 개체에게 투여하는 것을 포함하는 개체에서 열감 완화, 제어, 발생빈도 감소, 또는 발달 또는 진행 지연 방법을 제공한다. 상기 추가 제제는, 비제한적으로, 에스트로겐 및/또는 프로게스틴을 포함하는, 호르몬-기반 치료를 포함한다.
- [0029] 일 구현예에서, 상기 기재된 임의의 방법에서 사용된 항-CGRP 길항제 항체는 본원에 기재된 바와 같이 임의의 항체이다.
- [0030] 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 인간 CGRP를 인식한다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 양쪽 인간  $\alpha$ -CGRP 및  $\beta$ -CGRP에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 인간 및 팻트 CGRP에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 CGRP의 아미노산 25-37을 갖는 C-말단 단편을 결합한다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 CGRP의 아미노산 25-37 이내의 C-말단 에피토프에 결합한다.
- [0031] 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 단클론성 항체이다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 인간화된다. 일부 구현예에서, 항체는 인간이다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 (본원에 기재된 바와 같이) 항체 G1이다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 표 6에서 나타낸 항체 G1 또는 G1의 변이체의 하나 이상의 CDR(들) (예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 또는, 일부 구현예에서, 모두 6개의 CDR)를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 도 5에서 보이는 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 (서열식별번호: 1) 및 도 5에서 보이는 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 (서열식별번호: 2)을 포함한다.
- [0032] 일부 구현예에서, 항체는 변형된 불변 영역, 예컨대 (부분적으로 면역학적 불활성 포함) 면역학적으로 불활성인, 예를 들면, 보체 매개된 용해를 유발하지 않는, 항체-의존적 세포 매개된 세포독성 (ADCC)을 자극하지 않는, 미세아교를 활성화하지 않는, 또는 이들 활성 중 하나 이상을 감소시키는 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 불변 영역은 하기에 기재된 바와 같이 변형된다: Eur. J. Immunol. (1999) 29:2613-2624; PCT 출원 번호 PCT/GB99/01441; 및/또는 영국 특허 출원 번호 9809951.8. 다른 구현예에서, 항체는 하기 돌연변이: A330P331 내지 S330S331 (야생형 IgG2 서열을 참조로 아미노산 네버링)를 포함하는 인간 중쇄 IgG2 불변 영역을 포함한다. Eur. J. Immunol. (1999) 29:2613-2624. 일부 구현예에서, 항체의 중쇄 불변 영역은 임의의 하기 돌연변이를 갖는 인간 중쇄 IgG1이다: 1) A327A330P331 내지 G327S330S331; 2) E233L234L235G236 (서열식별번호: 48) 내지 P233V234A235와 G236 결실; 3) E233L234L235 내지 P233V234A235; 4) E233L234L235G236A327A330P331 (서열식별번호: 49) 내지 P233V234A235G327S330S331 (서열식별번호: 50) 과 G236 결실; 5) E233L234L235A327A330P331 (서열식별번호: 51) 내지 P233V234A235G327S330S331 (서열식별번호: 50); 및 6) N297 내지 A297 또는 N 제외 임의의 다른 아미노산. 일부 구현예에서, 항체의 중쇄 불변 영역은 임의의 하기 돌연변이를 갖는 인간 중쇄 IgG4이다: E233F234L235G236 (서열식별번호: 52) 내지 P233V234A235 와 G236 결실; E233F234L235 내지 P233V234A235; 및 S228L235 내지 P228E235.
- [0033] 또 다른 구현예에서, 불변 영역은 N-연결된 글리코실화에 대해 비글리코실화된다. 일부 구현예에서, 불변 영역은 올리고당 부착 잔기 (예컨대 Asn297) 돌연변이 및/또는 불변 영역에서 N-글리코실화 인식 서열의 일부인 잔기 측집에 의해 N-연결된 글리코실화에 대하여 비글리코실화된다. 일부 구현예에서, 불변 영역은 N-연결된 글리코실화에 대하여 비글리코실화된다. 불변 영역은 효소적으로 또는 글리코실화 결핍된 숙주세포에서 발현에 의해

N-연결된 글리코실화에 대해 비글리코실화될 수 있다.

- [0034] CGRP (예컨대 적절한 온도, 예컨대 25 또는 37 °C에서 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 인간  $\alpha$ -CGRP)에 대한 항-CGRP 길항제 항체의 결합 친화도 ( $K_D$ )는 약 0.02 내지 약 200 nM일 수 있다. 일부 구현예에서, 결합 친화도는 임의의 약 200 nM, 약 100 nM, 약 50 nM, 약 10 nM, 약 1 nM, 약 500 pM, 약 100 pM, 약 60 pM, 약 50 pM, 약 20 pM, 약 15 pM, 약 10 pM, 약 5 pM, 또는 약 2 pM이다. 일부 구현예에서, 결합 친화도는 임의의 약 250 nM, 약 200 nM, 약 100 nM, 약 50 nM, 약 10 nM, 약 1 nM, 약 500 pM, 약 100 pM, 또는 약 50 pM 미만이다. 일부 구현예에서, 결합 친화도는 약 50 nM 미만이다.
- [0035] 항-CGRP 길항제 항체는 두통 이전, 동안 및/또는 이후 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 두통 (예를 들면, 편두통 및 균발성 두통)의 공격에 앞서 투여된다. 항-CGRP 길항제 항체의 투여는, 하기를 포함하는, 당해기술에 공지된 임의의 수단일 수 있다: 경구로, 정맥내로, 피하로, 동맥내로, 근육내로, 비강내로 (예를 들면, 흡입 있거나 없이), 심장내로, 척수내로, 흉내로, 복강내로, 심실내로, 설하로, 경피로, 및/또는 흡입을 통해. 투여는 전신, 예를 들면 정맥내로, 또는 국재화될 수 있다.
- [0036] 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 또다른 제제, 예컨대 두통 치료용 또다른 제제와 함께 투여될 수 있다.
- [0037] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 방법에서 사용을 위한, 예를 들면, 두통 치료 또는 예방을 위한 약제의 제조용 항-CGRP 길항제 항체의 용도를 제공한다.
- [0038] 또 다른 측면에서, 본 발명은 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 부형제와 조합으로 유효량의 항-CGRP 길항제 항체를 포함하는 두통 (예를 들면, 편두통 및 균발성 두통) 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0039] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 방법에서 사용을 위한 키트를 제공한다. 일부 구현예에서, 본 키트는 용기, 약제학적으로 허용가능한 담체와 조합으로, 본원에 기재된 항-CGRP 길항제 항체를 포함하는 조성물, 및 본원에 기재된 임의의 방법에서 조성물의 사용 설명서를 포함한다.
- [0040] 본 발명은 또한 항-CGRP 길항제 항체 및 표 6에서 보이는 항체 G1로부터 유도된 폴리펩타이드 또는 그 변이체를 제공한다. 따라서, 일 측면에서, 본 발명은 ATCC 수탁 번호 PTA-6866 및 PTA-6867을 갖는 발현 벡터에 의해 생산되는 항체 G1 (상호교환적으로 "G1"으로 불림)을 제공한다. 예를 들면, 일 구현예에서는 ATCC 수탁 번호 PTA-6867을 갖는 발현 벡터에 의해 생산된 중쇄를 포함하는 항체이다. 추가 구현예에서는 ATCC 수탁 번호 PTA-6866을 갖는 발현 벡터에 의해 생산된 경쇄를 포함하는 항체이다. G1의 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열은 도 5에서 보여준다. (초티아 및 카밧 CDR 포함) 항체 G1의 상보성 결정 영역 (CDR) 부분은 또한 도 5에서 보여준다. G1의 임의의 파트 또는 전체 영역에 대한 참조는 ATCC 수탁 번호 PTA-6866 및 PTA-6867을 갖는 발현 벡터에 의해 생산된 서열, 및/또는 도 5에서 묘사된 서열을 포함한다고 이해된다. 일부 구현예에서, 본 발명은 또한 표 6에서 묘사된 아미노산 서열을 갖는 G1의 항체 변이체를 제공한다.
- [0041] 일 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 1에 대한 아미노산 서열에서 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97% 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일한  $V_H$  도메인을 포함하는 항체를 제공한다.
- [0042] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 2에 대한 아미노산 서열에서 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97% 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일한  $V_L$  도메인을 포함하는 항체를 제공한다.
- [0043] 또 다른 측면에서, 본 발명은 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 단편 또는 영역을 포함하는 항체를 제공한다. 일 구현예에서, 단편은 항체 G1의 경쇄이다. 또 다른 구현예에서, 단편은 항체 G1의 중쇄이다. 또 다른 구현예에서, 단편은 항체 G1의 경쇄 및/또는 중쇄로부터 하나 이상의 가변 영역을 함유한다. 또 다른 구현예에서, 단편은 도 5에서 보여준 경쇄 및/또는 중쇄로부터 하나 이상의 가변 영역을 함유한다. 또 다른 구현예에서, 단편은 항체 G1의 경쇄 및/또는 중쇄로부터 하나 이상의 CDR를 함유한다.
- [0044] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 5에서 제시된 바와 같이  $V_H$  CDR3, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5 아미노산 치환에 의해 서열식별번호: 5와 상이한 서열을 포함하는 (항체일 수 있거나 아닐 수 있는) 폴리펩타이드를 제공한다. 특정 구현예에서, 상기 아미노산 치환은 보존적 치환이다.

- [0045] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 8에서 제시된 바와 같이 V<sub>L</sub> CDR3, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5 아미노산 치환에 의해 서열식별번호: 8과 상이한 서열을 포함하는 (항체일 수 있거나 아닐 수 있는) 폴리펩타이드를 제공한다. 특정 구현예에서, 상기 아미노산 치환은 보존적 치환이다.
- [0046] 또 다른 측면에서, 본 발명은 하기 중 임의의 하나 이상을 포함하는 (항체일 수 있거나 아닐 수 있는) 폴리펩타이드를 제공한다: a) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 하나 이상의 CDR(들); b) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 중쇄로부터 CDR H3; c) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 경쇄로부터 CDR L3; d) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 경쇄로부터 3개의 CDR; e) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 중쇄로부터 3개의 CDR; f) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 경쇄로부터 3개의 CDR 및 중쇄로부터 3개의 CDR. 일부 구현예에서, 본 발명은 추가로 하기 중 임의의 하나 이상을 포함하는 (항체일 수 있거나 아닐 수 있는) 폴리펩타이드를 제공한다: a) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체로부터 유도된 하나 이상의 (1, 2, 3, 4, 5, 또는 6) CDR(들); b) 항체 G1의 중쇄로부터 CDR H3으로부터 유도된 CDR; 및/또는 c) 항체 G1의 경쇄로부터 CDR L3으로부터 유도된 CDR. 일부 구현예에서, CDR은 도 5에서 보여준 CDR이다. 일부 구현예에서, 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체로부터 유도된 하나 이상의 CDR는 G1 또는 그 변이체의 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6 CDR에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하다.
- [0047] 일부 구현예에서, CDR은 카밧 CDR이다. 다른 구현예에서, CDR은 초티아 CDR이다. 다른 구현예에서, CDR은 카밧 및 초티아 CDR (또한 "조합된 CDR" 또는 "확장된 CDR"로 지칭)의 조합이다. 환언하면, 1 초과 CDR을 함유하는 임의의 주어진 구현예에 대하여, CDR는 임의의 카밧, 초티아, 및/또는 조합될 수 있다.
- [0048] 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 (예컨대 항체)는 KASKXaaVXaaTYVS의 아미노산 서열 (서열식별번호: 53)을 포함하고, 여기서 위치 5에서 Xaa는 R, W, G, L, 또는 N이고; 그리고 여기서 위치 7에서 Xaa는 T, A, D, G, R, S, W, 또는 V이다. 일부 구현예에서, KASKXaaVXaaTYVS의 아미노산 서열 (서열식별번호: 53)은 항체 경쇄의 CDR1이다.
- [0049] 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 (예컨대 항체)는 XaaXaaSNRYXaa의 아미노산 서열 (서열식별번호: 54)을 포함하고, 여기서 위치 1에서 Xaa는 G 또는 A이고; 여기서 위치 2에서 Xaa는 A 또는 H이고; 그리고 여기서 위치 7에서 Xaa는 L, T, I, 또는 S이다. 일부 구현예에서, XaaXaaSNRYXaa의 아미노산 서열 (서열식별번호: 54)은 항체 경쇄의 CDR2이다.
- [0050] 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 (예컨대 항체)는 EIRSXaaSDXaaXaaATXaaYAXaaAVKG의 아미노산 서열 (서열식별번호: 55)을 포함하고, 여기서 위치 5에서 Xaa는 E, R, K, Q, 또는 N이고; 여기서 위치 8에서 Xaa는 A, G, N, E, H, S, L, R, C, F, Y, V, D, 또는 P이고; 여기서 위치 9에서 Xaa는 S, G, T, Y, C, E, L, A, P, I, N, R, V, D, 또는 M이고; 여기서 위치 12에서 Xaa는 H 또는 F이고; 여기서 위치 15에서 Xaa는 E 또는 D이다. 일부 구현예에서, EIRSXaaSDXaaXaaATXaaYAXaaAVKG의 아미노산 서열 (서열식별번호: 55)은 항체 중쇄의 CDR2이다.
- [0051] 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 (예컨대 항체)는 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 서열식별번호: 1의 위치 99에서 아미노산 잔기는 L이거나 또는 A, N, S, T, V, 또는 R에 의해 치환되고; 그리고 여기서 서열식별번호: 1의 위치 100에서 아미노산 잔기는 A이거나 또는 L, R, S, V, Y, C, G, T, K, 또는 P에 의해 치환된다.
- [0052] 일부 구현예에서, 항체는 인간 항체이다. 다른 구현예에서, 항체는 인간화된 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 단클론성이다. 일부 구현예에서, 항체 (또는 폴리펩타이드)는 단리된다. 일부 구현예에서, 항체 (또는 폴리펩타이드)는 실질적으로 순수하다.
- [0053] 항체의 중쇄 불변 영역은 임의의 유형의 불변 영역, 예컨대 IgG, IgM, IgD, IgA, 및 IgE; 및 임의의 이소형, 예컨대 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4일 수 있다.
- [0054] 일부 구현예에서, 항체는 본원에 기재된 바와 같이 변형된 불변 영역을 포함한다.
- [0055] 또 다른 측면에서, 본 발명은 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 단편 또는 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 (단리될 수 있는) 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 일부 구현예에서, 단편은 항체 G1의 경쇄이다. 또 다른 구현예에서, 단편은 항체 G1의 중쇄이다. 또 다른 구현예에서, 단편은 항체 G1의 경쇄 및/또는 중쇄로부터 하나 이상의 가변 영역을 함유한다. 또 다른 구현예에서, 단편은 항체 G1의 경쇄 및/또는 중쇄로

부터 하나 이상의 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6) 상보성 결정 영역 (CDR)을 함유한다.

[0056] 또 다른 측면에서, 본 발명은 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체에 대하여 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 (단리될 수 있는) 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 서열식별번호: 9 및 서열식별번호: 10에서 보여준 폴리뉴클레오타이드의 한쪽 또는 양쪽을 포함한다.

[0057] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 항체 (항체 단편 포함) 또는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.

[0058] 또 다른 측면에서, 본 발명은 벡터 (발현 및 클로닝 벡터 포함) 및 본원에 개시된 임의의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 숙주세포를 제공한다. 일부 구현예에서, 벡터는 ATCC 번호 PTA-6867을 갖는 pDb.CGRP.hFcGI이다. 다른 구현예에서, 벡터는 ATCC 번호 PTA-6866을 갖는 pEb.CGRP.hKGI이다.

[0059] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 숙주세포를 제공한다.

[0060] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 항체 또는 폴리펩타이드에 의해 결합된 CGRP의 복합체를 제공한다. 일부 구현예에서, 항체는 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체이다.

[0061] 또 다른 측면에서, 본 발명은 유효량의 임의의 폴리펩타이드 (항체, 예컨대 항체 G1의 하나 이상의 CDR를 포함하는 항체 포함) 또는 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드, 및 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0062] 또 다른 측면에서, 본 발명은 항체 G1을 생산하는 조건 하에서 숙주세포 또는 그 자손의 배양을 포함하는 항체 G1의 발생 방법 (여기서 상기 숙주세포는 항체 G1에 대하여 암호화하는 발현 벡터를 포함한다); 및, 일부 구현 예에서, 항체 G1의 정제 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 서열식별번호: 9 및 서열식별번호: 10에서 보여준 폴리뉴클레오타이드 서열의 한쪽 또는 양쪽을 포함한다.

[0063] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (단일 경쇄 또는 중쇄로서 별도로 발현될 수 있거나, 또는 양쪽 경쇄 및 중쇄가 1 벡터로부터 발현되는) 항체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 적합한 세포내 폴리펩타이드를 발현시킨 다음, 일반적으로 관심 항체 또는 폴리펩타이드를 회수 및/또는 단리시킴으로써 본원에 기재된 임의의 항체 또는 폴리펩타이드의 발생 방법을 제공한다.

[0064] 항-CGRP 길항제 항체 및 폴리펩타이드, 및 본 발명의 항체 및 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 CGRP의 비정상 기능과 관련된 질환, 예컨대 두통 (예를 들면, 편두통, 군발성 두통, 만성적 두통, 및 긴장성 두통) 및 CGRP 활성 길항에 의해 치료 또는 예방될 수 있는 다른 증상의 치료, 예방, 완화, 제어, 또는 발생빈도 감소에 사용될 수 있다.

[0065] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 조성물 중 임의의 하나 이상을 포함하는 조성물 및 키트를 제공한다. 일반적으로 적합한 패키징으로 그리고 적절한 설명서가 제공되는 이들 키트는 본원에 기재된 임의의 방법에 유용하다.

[0066] 일 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 방법에 따라 사용을 위한 조성물을 제공한다.

[0067] 일 측면에서, 본 발명은 대상체에서 적어도 하나의 혈관운동 증상 및/또는 두통의 치료 또는 발생빈도 감소에서 사용하기 위한 조성물을 제공한다. 일 구현예에서, 본 용도는 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체 (예를 들면, 단클론성 항-CGRP-길항제 항체)의 양을 복수의 일에 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 복수의 일에 투여된 상기 양은 1000 mg 미만이다. 일 구현예에서, 본 용도는 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체 (예를 들면, 단클론성 항-CGRP-길항제 항체)의 양을 복수의 일에 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 복수의 일에 투여된 상기 양은 100-2000 mg 사이이다. 일부 구현예에서, 두통은 편두통형 두통 (예를 들면 만성적 편두통형 두통 또는 간헐적 편두통형 두통)이다. 일부 구현예에서, 복수의 일의 2개는 7 일 초과 간격이다. 일부 구현예에서, 두통의 발생빈도는 단일 투여 이후 적어도 7 일 동안 감소된다. 일부 구현예에서, 제1 일에 투여된 단클론성 항체의 양은 제2 일에 투여된 단클론성 항체의 양과 상이하다 (예를 들면 초과이다). 일부 구현예에서, 대상체는 달마다 3 미만 용량 투여된다. 일부 구현예에서, 투여는 피하 투여이다. 일부 구현예에서, 투여는 정맥내 투여이다. 일부 구현예에서, 투여는 단클론성 항체의 양을 포함하는 예비 충전된 주사기를 사용하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 150 mg/mL의 농도에서 제형화된다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 2 mL 미만의 용적으로 투여된다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체의 양은 1000 mg 미만이다. 일부 구현예에서, 상기 투여 이후 대상체에 의해 겪는 매달 두통 시간은 대상체에서 사전-투여 수

준으로부터 40 이상 시간 (예를 들면 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80 이상)만큼 감소된다. 매달 두통 시간은 60 시간 초과만큼 감소될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 투여 이후 대상체에 의해 겪는 매달 두통 시간은 대상체에서 사전-투여 수준에 비해 25% 이상 (예를 들면 30%, 35%, 40%, 45%, 50% 이상)만큼 감소된다. 매달 두통 시간은 40% 이상만큼 감소될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 투여 이후 대상체에 의해 겪는 매달 두통 일은 대상체에서 사전-투여 수준으로부터 3 이상 일 (예를 들면 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 일 이상)만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 본 용도는 추가로 상기 대상체에게 제2 제제를 동시에 또는 순차적으로 단클론성 항체와 함께 투여하는 것을 포함한다. 제2 제제는 임의의 5-HT1 작용제, 트립탄, 맥각 알칼로이드, 및 비-스테로이드 항-염증성 약물일 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 제제는 예방적으로 대상체에 의해 선택된 제제이다. 일부 구현예에서, 대상체에 의한 제2 제제의 매달 사용은 단클론성 항체 투여 이후 적어도 15%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 제2 제제는 트립탄이다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 인간 또는 인간화된 단클론성 항체이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 (a) 서열식별번호: 3에서 제시된 바와 같이 CDR H1; 서열식별번호: 4에서 제시된 바와 같이 CDR H2; 서열식별번호: 5에서 제시된 바와 같이 CDR H3; 서열식별번호: 6에서 제시된 바와 같이 CDR L1; 서열식별번호: 7에서 제시된 바와 같이 CDR L2; 및 서열식별번호: 8에서 제시된 바와 같이 CDR L3을 갖는 항체; 또는 (b) 표 6에서 보여준 바와 같이 (a)에 따른 항체의 변이체를 포함한다.

[0068]

일 측면에서, 본 발명은 대상체에 의해 겪는 다수의 매달 두통 시간 감소에서 사용하기 위한 조성물을 제공한다. 일 구현예에서, 본 용도는 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체의 양을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서 상기 단클론성 항체는 단회 복용 이후 적어도 20 (예를 들면 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 두통 시간 이상)만큼 매달 두통 시간의 수를 감소시키는데 효과적인 양이다. 일부 구현예에서, 매달 두통 시간의 수는 적어도 약 50 시간만큼 감소된다. 일 구현예에서, 본 용도는 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체의 양을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서 상기 단클론성 항체는 단회 복용 이후 적어도 15% (예를 들면 20%, 25%, 30%, 35%, 40% 이상)만큼 매달 두통 시간의 수를 감소시키는데 효과적인 양이다. 일부 구현예에서, 매달 두통 시간의 수는 적어도 약 30%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 항-CGRP 길항제 항체이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체의 양은 1000 mg 미만이다. 일부 구현예에서, 대상체는 달마다 3 미만 용량 투여된다. 일부 구현예에서, 투여는 피하 또는 정맥내 투여이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 적어도 150 mg/mL의 농도에서 제형화된다. 일부 구현예에서, 여기서 상기 단클론성 항체는 2 mL 미만의 용적으로 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 인간 또는 인간화된다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 (a) 서열식별번호: 3에서 제시된 바와 같이 CDR H1; 서열식별번호: 4에서 제시된 바와 같이 CDR H2; 서열식별번호: 5에서 제시된 바와 같이 CDR H3; 서열식별번호: 6에서 제시된 바와 같이 CDR L1; 서열식별번호: 7에서 제시된 바와 같이 CDR L2; 및 서열식별번호: 8에서 제시된 바와 같이 CDR L3을 갖는 항체; 또는 (b) 표 6에서 보여준 바와 같이 (a)에 따른 항체의 변이체를 포함한다.

[0069]

일 측면에서, 본 발명은 대상체에 의해 겪는 다수의 매달 두통 일 감소에서 사용을 위한 조성물을 제공한다. 일 구현예에서, 본 용도는 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체의 양을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서 상기 단클론성 항체는 단회 복용 이후 적어도 3 (예를 들면 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 두통 일 이상)만큼 매달 두통 일의 수를 감소시키는데 효과적인 양이다. 일부 구현예에서, 매달 두통 일의 수는 적어도 약 6 두통 일만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 항-CGRP 길항제 항체이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체의 양은 1000 mg 미만이다. 일부 구현예에서, 대상체는 달마다 3 미만 용량 투여된다. 일부 구현예에서, 투여는 피하 또는 정맥내 투여이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 적어도 150 mg/mL의 농도에서 제형화된다. 일부 구현예에서, 여기서 상기 단클론성 항체는 2 mL 미만의 용적으로 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 인간 또는 인간화된다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 (a) 서열식별번호: 3에서 제시된 바와 같이 CDR H1; 서열식별번호: 4에서 제시된 바와 같이 CDR H2; 서열식별번호: 5에서 제시된 바와 같이 CDR H3; 서열식별번호: 6에서 제시된 바와 같이 CDR L1; 서열식별번호: 7에서 제시된 바와 같이 CDR L2; 및 서열식별번호: 8에서 제시된 바와 같이 CDR L3을 갖는 항체; 또는 (b) 표 6에서 보여준 바와 같이 (a)에 따른 항체의 변이체를 포함한다.

[0070]

일 측면에서, 본 발명은, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체 (예를 들면, 항-CGRP 길항제 항체)를 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체내 항-두통 약물의 사용 감소에서 사용을 위한 조성물을 제공하고, 여기서 상기 단클론성 항체는 적어도 15% (예를 들면 20%, 25%, 30%, 35%, 40% 이상)만큼 대상체에 의한 항-두통 약물의 매달 사용을 감소시키는데 효과적인 양이다. 일부 구현예에서, 항-두통 약물은 5-HT1 작용제, 트립탄, 아편제,  $\beta$ -아드레날린 길항제, 맥각 알칼로이드, 및 비-스테로이드 항-염증성 약물 (NSAID)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 항-두통 약물은 트립탄이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체의 양은 1000 mg

미만이다. 일부 구현예에서, 대상체는 달마다 3 미만 용량 투여된다. 일부 구현예에서, 투여는 피하 또는 정맥내 투여이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 적어도 150 mg/mL의 농도에서 제형화된다. 일부 구현예에서, 여기서 상기 단클론성 항체는 2 mL 미만의 용적으로 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 인간 또는 인간화된다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 (a) 서열식별번호: 3에서 제시된 바와 같이 CDR H1; 서열식별번호: 4에서 제시된 바와 같이 CDR H2; 서열식별번호: 5에서 제시된 바와 같이 CDR H3; 서열식별번호: 6에서 제시된 바와 같이 CDR L1; 서열식별번호: 7에서 제시된 바와 같이 CDR L2; 및 서열식별번호: 8에서 제시된 바와 같이 CDR L3을 갖는 항체; 또는 (b) 표 6에서 보여준 바와 같이 (a)에 따른 항체의 변이체를 포함한다.

[0071] 일 측면에서, 본 발명은 CGRP 경로를 조정하는 양으로 단클론성 항체 (예를 들면, 단클론성 항-CGRP-길항체 항체)의 단회 용량을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 대상체에서 두통 (예를 들면, 편두통형 두통)의 치료 또는 발생빈도 감소에서 사용을 위한 조성물을 제공하고, 여기서 단클론성 항체의 상기 양은 100-2000 mg 사이이다.

### 도면의 간단한 설명

[0072] 도 1은 상이한 알라닌 치환된 인간  $\alpha$ -CGRP 단편에 대하여 12 젖과 항체의 결합 친화도를 보여주는 표이다. 결합 친화도는 칩에서 CGRPs에 걸쳐 Fabs를 유동시킴으로써 비아코어를 이용하여 25°C에서 측정되었다. 박스표시된 값은, 19-37 모로부터 유도되었던, K35A 제외, 친계 단편, 25-37 (이탈릭)에 의해 알라닌 돌연변이체의 친화도에서 손실을 나타낸다. <sup>a</sup>는 19-37 및 25-37 단편에 대한 친화도가 상이한 센서 칩에서 2개의 독립적인 측정의 보통 평균 ± 표준 편차임을 표시한다. <sup>b</sup>는 상기 상호작용이 2상 오프레이트로 인한 단순 이분자 상호작용 모델로부터 벗어남을 표시하고, 이로써 그 친화도가 형태적 변화 모델을 이용하여 결정되었다. 흑백용 색인: 백색 (1.0)은 친계 친화도를 표시하고; 회백색 (0.5 미만)은 모보다 높은 친화도를 표시하고; 쥐색 (2 초과)은 모보다 낮은 친화도를 표시하고; 그리고 흑색은 결합이 검출되지 않았음을 표시한다.

도 2a 및 2b는 30 초 동안 전기 펄스 자극 이후 혈구 유동으로서 측정된 피부 혈류에서 CGRP 8-37 (400 nmol/kg), 항체 4901 (25 mg/kg), 및 항체 7D11 (25 mg/kg) 투여의 효과를 보여준다. CGRP 8-37은 전기 펄스 자극 이전 정맥내 (iv) 3-5 분 투여되었다. 항체는 전기 펄스 자극 이전 복강내 (IP) 72 시간 투여되었다. 그래프에서 각각의 지점은 표시된 바와 같은 조건하에서 처리된 1 랫트의 AUC를 나타낸다. 그래프에서 각각의 라인은 표시된 바와 같은 조건하에서 처리된 랫트의 평균 AUC를 나타낸다. AUC (곡선하 면적)는  $\Delta$ 유동  $\times$   $\Delta$ 시간과 같다.  $\Delta$ 유동은 전기 펄스 자극 이후 유동 단위의 변화를 나타내고; 그리고  $\Delta$ 시간은 전기 펄스 자극 이전 수준으로 복귀하기 위해 혈구 유동 수준으로 선택된 시간 기간을 나타낸다.

도 3은 30 초 동안 전기 펄스 자극 이후 혈구 유동으로서 측정된 피부 혈류에서 상이한 복용량의 항체 4901 (25 mg/kg, 5 mg/kg, 2.5 mg/kg, 또는 1 mg/kg) 투여의 효과를 보여준다. 항체는 전기 펄스 자극 이전 정맥내 (IV) 24 시간 투여되었다. 그래프에서 각각의 지점은 표시된 바와 같은 조건하에서 처리된 1 랫트의 AUC를 나타낸다. 그래프에서 라인은 표시된 바와 같은 조건하에서 처리된 랫트의 평균 AUC를 나타낸다.

도 4a 및 4b는 30 초 동안 전기 펄스 자극 이후 혈구 유동으로서 측정된 피부 혈류에서 항체 4901 (1 mg/kg 또는 10 mg/kg, i.v.), 항체 7E9 (10 mg/kg, i.v.), 및 항체 8B6 (10 mg/kg, i.v.) 투여의 효과를 보여준다. 항체는 정맥내 (i.v.) 투여된 다음 항체 투여 이후 30 분, 60 분, 90 분, 및 120 분에서 전기 펄스 자극되었다. Y 축은 항체가 투여되지 않았을 때 (시간 0) AUC의 수준에 비교시 AUC의 퍼센트를 나타낸다. X 축은 항체의 투여와 전기 펄스 자극 사이의 시간 (분) 기간을 나타낸다. 시간 0 과 비교시, <sup>\*</sup>는  $P < 0.05$ 를 표시하고, 그리고 <sup>\*\*</sup>는  $P < 0.01$ 을 표시한다. 데이터는 던넷 다중 비교 시험을 갖춘 1방식 ANOVA를 이용하여 분석되었다.

도 5는 항체 G1의 중쇄 가변 영역 (서열식별번호: 1) 및 경쇄 가변 영역 (서열식별번호: 2)의 아미노산 서열을 보여준다. 카밧 CDR는 볼드체이고, 그리고 초티아 CDR는 밑줄로 표시된다. 중쇄 및 경쇄 가변 영역에 대한 아미노산 잔기는 순차적으로 넘버링된다.

도 6은 비아코어를 이용한 웹타이드 경쟁에 의해 항체 G1의 에피토프 맵핑을 보여준다. N-바이오티닐화된 인간  $\alpha$ -CGRP를 SA 센서 칩에서 포착하였다. 경쟁 웹타이드 부재시 또는 경쟁 웹타이드 10  $\mu$ M으로 1 시간 동안 사전-항온처리된 G1 Fab (50 nM)를 칩에서 유동시켰다. 칩에서 인간  $\alpha$ -CGRP에 G1 Fab의 결합을 측정하였다. Y 축은 경쟁 웹타이드의 부재시 결합과 비교된 경쟁 웹타이드의 존재에 의해 차단된 결합의 백분율을 나타낸다.

도 7은 30 초 동안 전기 펄스 자극 이후 혈구 유동으로서 측정된 피부 혈류에서 항체 G1 (1 mg/kg 또는 10

mg/kg, i.v.) 또는 비히클 (PBS, 0.01% Tween 20) 투여의 효과를 보여준다. 항체 G1 또는 비히클은 정맥내 (i.v.) 투여된 다음 항체 투여 이후 30 분, 60 분, 90 분, 및 120 분에서 신경 전기 펄스 자극되었다. Y 축은 (100%로서 정의된) 항체 또는 비히클이 투여되지 않았을 때 (시간 0) AUC의 수준에 비교시 AUC의 퍼센트를 나타낸다. X 축은 항체의 투여와 전기 펄스 자극 사이의 시간 (분) 기간을 나타낸다. 비히클과 비교시, "\*"는  $P < 0.05$ 를 표시하고, 그리고 "\*\*"는  $P < 0.01$ 을 표시한다. 데이터는 2방식 ANOVA 및 본페로니 후 시험을 이용하여 분석되었다.

도 8a는 투여 24 시간 이후 30 초 동안 전기 펄스 자극 이후 혈구 유동으로서 측정된 피부 혈류에서 항체 G1 (1 mg/kg, 3 mg/kg 또는 10 mg/kg, i.v.) 또는 비히클 (PBS, 0.01% Tween 20) 투여의 효과를 보여준다. 항체 G1 또는 비히클은 신경 전기 펄스 자극 이전 정맥내 (i.v.) 24 시간 투여되었다. Y 축은 총 곡선하 면적 (유동이 기준선, AUC으로 복귀할 때까지 자극으로부터 시간 변화 곱하기 혈구 유동 변화)을 나타낸다. X 축은 항체 G1의 가변 용량을 나타낸다. 비히클과 비교시, "\*"는  $P < 0.05$ 를 나타내고, 그리고 "\*\*"는  $P < 0.01$ 을 나타낸다. 데이터는 1방식 ANOVA 및 던스 다중 비교 시험을 이용하여 분석되었다.

도 8b는 투여 7 일 이후 30 초 동안 전기 펄스 자극 이후 혈구 유동으로서 측정된 피부 혈류에서 항체 G1 (0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg 또는 10 mg/kg, i.v.) 또는 비히클 (PBS, 0.01% Tween 20) 투여의 효과를 보여준다. 항체 G1 또는 비히클은 신경 전기 펄스 자극 이전 정맥내 (i.v.) 7 일 투여되었다. Y 축은 총 AUC를 나타낸다. X 축은 항체 G1의 가변 용량을 나타낸다. 비히클과 비교시, "\*\*"는  $P < 0.01$ 을 표시하고, 그리고 "\*\*\*"는  $P < 0.001$ 을 표시한다. 데이터는 1방식 ANOVA 및 던스 다중 비교 시험을 이용하여 분석되었다.

도 8c는 도 8a 및 8b로부터 데이터의 곡선 적합 분석이다. 항체 G1 또는 비히클은 신경 전기 펄스 자극 이전 정맥내 (i.v.) 24 시간 또는 7 일 투여되었다. Y 축은 총 AUC를 나타낸다. X 축은  $EC_{50}$ 을 결정하기 위해 로그 눈금에서 "mg/kg"으로 항체 G1의 가변 용량을 나타낸다.

도 9는 전기장 자극 이후 중간 수막성 동맥의 직경 변화에서 항체 mu7E9 (10 mg/kg), BIBN4096BS 또는 비히클 (PBS, 0.01% Tween 20)의 효과를 보여준다. 항체 mu7E9, BIBN4096BS 또는 비히클은 전기장 자극에 대한 기준선 반응이 확립된 이후 시점 0 분에서 정맥내 (i.v.) 투여되었다. Y 축은 전기장 자극 이후 중간 수막성 동맥의 직경 변화를 나타낸다. 정지 직경은 0%에 상응한다. X 축은 전기 펄스 자극의 시간 (분)을 나타낸다. 비히클과 비교시, "\*"는  $P < 0.05$ 를 표시하고, 그리고 "\*\*"는  $P < 0.01$ 을 표시한다. 데이터는 1방식 ANOVA 및 두넷 다중 비교 시험을 이용하여 분석되었다.

도 10은 전기장 자극 이후 중간 수막성 동맥의 직경 변화에서 항체 G1 (1 mg/kg, 3 mg/kg 또는 10 mg/kg, i.v.) 또는 비히클 (PBS, 0.01% Tween 20)의 가변 용량의 효과를 보여준다. 항체 G1 또는 비히클은 전기장 자극 이전 정맥내 (i.v.) 7 일 투여되었다. Y 축은 중간 수막성 동맥의 직경 변화를 나타낸다. 정지 직경은 0%에 상응한다. X 축은 자극 전압을 나타낸다. 비히클과 비교시, "\*"는  $P < 0.05$ 를 표시하고, "\*\*"는  $P < 0.01$ 을 표시하고, 그리고 "\*\*\*"는  $P < 0.001$ 을 표시한다. 데이터는 2방식 ANOVA 및 본페로니 후 시험을 이용하여 분석되었다.

도 11a는 모르핀 중독된 랫트에서 날록손 (1mg/kg)의 피하 주사에 의해 유도된 코어 온도 감소에서 먼저 정맥내 (i.v.) 24 시간 투여된 항체 mu4901 (10mg/kg) 또는 비히클 (PBS, 0.01% Tween 20)의 효과를 보여준다. Y 축은 기준선으로부터 온도 차이를 나타낸다. X 축은 날록손 주사의 지점으로부터 측정된 시간을 나타낸다.

도 11b는 모르핀 중독된 랫트에서 날록손 (1mg/kg)의 피하 주사에 의해 유도된 꼬리 표면 온도 증가에서 먼저 정맥내 (i.v.) 24 시간 투여된 항체 mu4901 (10mg/kg) 또는 비히클 (PBS, 0.01% Tween 20)의 효과를 보여준다. Y 축은 기준선으로부터 온도 차이를 나타낸다. X 축은 날록손 주사의 지점으로부터 측정된 시간을 나타낸다.

도 12는 상이한 용량의 항체 G1의 효과를 위약과 비교하는 임상 연구의 결과를 예시하는 그래프이다.

도 13은 상이한 용량의 항체 G1의 효과를 위약과 비교하는 임상 연구의 결과를 예시하는 그래프이다.

도 14는 상이한 용량의 항체 G1의 효과를 위약과 비교하는 임상 연구의 결과를 예시하는 그래프이다.

도 15는 상이한 용량의 항체 G1의 효과를 위약과 비교하는 임상 연구의 결과를 예시하는 그래프이다.

도 16은 상이한 용량의 항체 G1의 효과를 위약과 비교하는 임상 연구의 결과를 예시하는 그래프이다.

도 17은 상이한 용량의 항체 G1의 효과를 위약과 비교하는 임상 연구의 결과를 예시하는 그래프이다.

도 18은 상이한 용량의 항체 G1의 효과를 위약과 비교하는 임상 연구의 결과를 예시하는 그라프이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0073] 일부 측면에서, 본원에 개시된 본 발명은 하기 개체에게 치료적 유효량의 항-CGRP 길항제 항체를 투여함으로써 개체에서 혈관운동 증상 (예를 들면, 열감)의 치료 및/또는 예방 방법을 제공한다.
- [0074] 일부 측면에서, 본원에 개시된 본 발명은 하기 개체에게 치료적 유효량의 항-CGRP 길항제 항체를 투여함으로써 개체에서 두통 (예를 들면, 편두통, 군발성 두통, 만성적 두통, 및 긴장성 두통)의 치료 및/또는 예방 방법을 제공한다. 일부 경우에서, 두통은 편두통형 두통이다.
- [0075] 일부 측면에서, 본원에 개시된 본 발명은 또한 항-CGRP 길항제 항체 및 표 6에서 보여준 G1 또는 그 변이체로부터 유도된 폴리펩타이드를 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 또한 이를 항체 및 폴리펩타이드의 제조 및 사용 방법을 제공한다.
- [0076] 본 출원 전반에 걸쳐 다양한 공보 (특허 및 특허 출원 포함)가 참조된다. 그 전체로 상기 공보의 개시내용은 이로써 참고로 편입된다.
- [0077] 일반적인 기술
- [0078] 본 발명의 다양한 측면의 실시는, 당해분야의 기술내에 있는, 분자 생물학 (제조합 기술 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학 및 면역학의 종래의 기술을, 다르게 명시되지 않으면, 사용할 것이다. 상기 기술은 하기에 충분히 설명된다: 문헌, 예컨대, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook et al., 1989) Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J.P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-1998) J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: a practical approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J.D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995).
- [0079] 정의
- [0080] "항체"는, 면역글로불린 분자의 가변 영역에서 위치한, 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해, 표적, 예컨대 탄수화물, 폴리뉴클레오타이드, 지질, 폴리펩타이드 등에 특이적 결합할 수 있는 면역글로불린 분자이다. 본원에서 사용된 바와 같이, 상기 용어는 온전한 다클론성 또는 단클론성 항체, 뿐만 아니라 그 단편 (예컨대 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, 단일 사슬 (ScFv), 그 돌연변이체, 항체부 (예컨대 도메인 항체)를 포함하는 융합 단백질, 및 항원 인식 부위를 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 입체배치를 포함한다. 항체는 임의의 부류의 항체, 예컨대 IgG, IgA, 또는 IgM (또는 그 하위-부류)을 포함하고, 그리고 상기 항체는 임의의 특정한 부류일 필요는 없다. 그 중쇄의 불변 도메인의 항체 아미노산 서열에 의존하여, 면역글로불린은 상이한 부류에 배정될 수 있다. 면역글로불린의 5개의 주요 부류: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM가 있고, 그리고 몇 개의 이들은 하위부류 (이소형), 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 추가로 분할될 수 있다. 면역글로불린의 상이한 부류에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 알파, 델타, 엡실론, 감마, 및 뮤, 각각으로 지칭된다. 면역글로불린의 상이한 부류의 하부단위 구조 및 3차원 입체배치는 잘 알려진다.
- [0081] 본원에서 사용된 바와 같이, "단클론성 항체"는 실질적으로 균질 항체의 집단으로부터 수득된 항체를 지칭한다, 즉, 집단을 포함하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 천연 발생 돌연변이를 제외하고 동일하다. 단클론성 항체는 단일 항원성 부위에 관련되는, 고 특이성이다. 더욱이, 전형적으로 상이한 결정인자 (에피토프)에 관련된 상이한 항체를 포함하는 다클론성 항체 제조와 대조로, 각각의 단클론성 항체는 항원에서

단일 결정인자에 관련된다. 변형제 "단클론성"은 항체의 실질적으로 균질 집단으로부터 수득된 바와 같은 항체의 특징을 표시하고, 그리고 임의의 특정한 방법에 의해 항체의 생산을 요구하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 예를 들면, 본 발명에 따라 사용되는 단클론성 항체는 Kohler 및 Milstein, 1975, *Nature*, 256:495에 의해 먼저 기재된 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있거나, 또는 재조합 DNA 방법에 의해 예컨대 미국 특허 번호 4,816,567에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 단클론성 항체는 예를 들면 McCafferty et al., 1990, *Nature*, 348:552-554에 기재된 기술을 이용하여 발생된 파아지 라이브러리로부터 또한 단리될 수 있다.

[0082]

본원에서 사용된 바와 같이, "인간화된" 항체는 특정 키메라성 면역글로불린, 면역글로불린 사슬인 비-인간 (예를 들면 젖과) 항체의 형태, 또는 비-인간 면역글로불린으로부터 유도된 최소 서열을 함유하는 그 단편 (예컨대 Fv, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> 또는 항체의 다른 항원-결합 하위서열)을 지칭한다. 대개, 인간화된 항체는 수령체의 상보성 결정 영역 (CDR)으로부터 잔기가 원하는 특이성, 친화도, 및, 생물학적 활성을 갖는 비-인간 종 (공여체 항체) 예컨대 마우스, 랫트, 또는 토끼의 CDR로부터 잔기로 대체되는 인간 면역글로불린 (수령체 항체)이다. 일부 예에서, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기로 대체된다. 더욱이, 인간화된 항체는, 수령체 항체에서도 수입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서도 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있지만, 항체 성능을 추가로 제한 및 최적화하기 위해 포함된다. 일반적으로, 인간화된 항체는 적어도 하나의, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함할 것이고, 여기에서 CDR 영역의 모두 또는 실질적으로 모두는 비-인간 면역글로불린의 것에 상응하고 그리고 FR 영역의 모두 또는 실질적으로 모두는 인간 면역글로불린 공통 서열의 것이다. 인간화된 항체는 최적으로 또한 면역글로불린 불변 영역 또는 도메인 (Fc)의 적어도 일부, 전형적으로 인간 면역글로불린의 것을 포함할 것이다. 항체는 WO 99/58572에 기재된 바와 같이 변형된 Fc 영역을 가질 수 있다. 인간화된 항체의 다른 형태는, 최초 항체로부터 하나 이상의 CDR "로부터 유도된" 하나 이상의 CDR로 또한 지칭되는, 최초 항체에 대하여 변경되는 하나 이상의 CDR (1, 2, 3, 4, 5, 6)를 갖는다.

[0083]

본원에서 사용된 바와 같이, "인간 항체"는 인간에 의해 생산된 항체의 것에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 항체를 의미하고/하거나 당해기술에 공지된 또는 본원에 개시된 인간 항체의 임의의 제조 기술을 이용하여 제조된다. 인간 항체의 상기 정의는 적어도 하나의 인간 중쇄 폴리펩타이드 또는 적어도 하나의 인간 경쇄 폴리펩타이드를 포함하는 항체를 포함한다. 한가지 상기 예는 젖과 경쇄 및 인간 중쇄 폴리펩타이드를 포함하는 항체이다. 인간 항체는 당해기술에 공지된 다양한 기술을 이용하여 생산될 수 있다. 일 구현예에서, 인간 항체는 파아지 라이브러리로부터 선택되고, 여기에서 파아지 라이브러리는 인간 항체를 발현한다 (Vaughan et al., 1996, *Nature Biotechnology*, 14:309-314; Sheets et al., 1998, *PNAS*, (USA) 95:6157-6162; Hoogenboom and Winter, 1991, *J. Mol. Biol.*, 227:381; Marks et al., 1991, *J. Mol. Biol.*, 222:581). 인간 항체는 내인성 면역글로불린 유전자가 부분적으로 또는 완전히 불활성화되는 형질전환 동물, 예를 들면, 마우스에 인간 면역글로불린 유전자좌를 도입함으로써 제조될 수 있다. 상기 접근법은 미국 특허 번호 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 및 5,661,016에 기재된다. 대안적으로, 인간 항체는 표적 항원에 관련된 항체를 생산하는 인간 B 림프구 불멸화에 의해 제조될 수 있다 (상기 B 림프구는 개체로부터 회수될 수 있거나 또는 시험관내 면역화될 수 있다). 참고, 예를 들면, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., 1991, *J. Immunol.*, 147 (1):86-95; 및 미국 특허 번호 5,750,373.

[0084]

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "칼시토닌 유전자-관련 웨타이드" 및 "CGRP"는 CGRP의 활성의 적어도 일부를 보유하는 임의의 형태의 칼시토닌 유전자-관련 웨타이드 및 그 변이체를 지칭한다. 예를 들면, CGRP는  $\alpha$ -CGRP 또는  $\beta$ -CGRP일 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, CGRP는 천연 서열 CGRP의 모든 포유동물 종, 예를 들면, 인간, 갯과, 고양이, 말, 및 소를 포함한다.

[0085]

본원에서 사용된 바와 같이, "항-CGRP 길항체 항체" (상호교환적으로 "항-CGRP 항체"로 지칭됨)는 CGRP에 결합할 수 있는 및 CGRP 신호전달에 의해 매개된 CGRP 생물학적 활성 및/또는 다운스트림 경로(들)을 억제할 수 있는 항체를 지칭한다. 항-CGRP 길항체 항체는, CGRP 신호전달에 의해 매개된 다운스트림 경로, 예컨대 수용체 결합 및/또는 CGRP에 대한 세포성 반응의 도출을 포함하는, (유의미하게 포함하는) CGRP 생물학적 활성을 조정하는, 차단하는, 길항하는, 억압하는 또는 감소하는, 또는 달리 CGRP 경로를 길항하는 항체를 포함한다. 본 발명의 목적을 위해, 용어 "항-CGRP 길항체 항체"가 모든 이전에 확인된 용어들, 제목, 및 기능적 상태 및 특성을 포함함이 명백하게 이해될 것이고 이로써 CGRP 자체, CGRP 생물학적 활성 (임의의 측면의 두통을 매개하는 그 능력을 비제한적으로 포함), 또는 생물학적 활성의 결과는 임의의 유의미한 정도로 실질적으로 무효화, 감소 또는 종화된다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항체 항체는 CGRP에 결합하고 그리고 CGRP 수용체에 CGRP 결합을 예방한다. 다른 구현예에서, 항-CGRP 항체는 CGRP에 결합하고 그리고 CGRP 수용체의 활성화를 예방한다. 항-CGRP

길항체 항체의 예는 본원에서 제공된다.

[0086]

본원에서 사용된 바와 같이, 용어들 "G1" 및 "항체 G1"은 ATCC PTA-6867 및 ATCC PTA-6866의 수탁 번호를 갖는 발현 벡터에 의해 생산된 항체를 지칭하기 위해 상호교환적으로 사용된다. 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열은 도 5에서 보여준다. 항체 G1 (초티아 및 카밧 CDR 포함)의 CDR 부분은 도 5에서 도식적으로 묘사된다. 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 서열식별번호: 9 및 서열식별번호: 10에서 보여준다. G1의 특성규명은 실시예에서 기재된다.

[0087]

용어들 "폴리펩타이드", "올리고펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 임의의 길이의 아미노산의 폴리머를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 폴리머는 선형 또는 분지형일 수 있고, 변형된 아미노산을 포함할 수 있고, 그리고 비-아미노산에 의해 저해될 수 있다. 상기 용어들은 또한 예를 들면, 이황화 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 또는 임의의 다른 조작 또는 변형, 예컨대 표지화 성분으로 콘주케이션에 의해 자연적으로 또는 처치에 의하여 변형되는 아미노산 폴리머를 포함한다. 예를 들면, 아미노산 (예를 들면, 비천연 아미노산 등 포함)의 하나 이상의 유사체, 뿐만 아니라 당해기술에 공지된 다른 변형을 함유하는 폴리펩타이드가 또한 상기 정의내에 포함된다. 본 발명의 폴리펩타이드가 항체에 기반하기 때문에, 폴리펩타이드가 단일 사슬 또는 관련된 사슬로서 발생할 수 있음이 이해된다.

[0088]

본원에서 상호교환적으로 사용되는 바와 같이 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 폴리머를 지칭하고, 그리고 DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오타이드는 데옥시리보뉴클레오타이드, 리보뉴클레오타이드, 변형된 뉴클레오타이드 또는 염기, 및/또는 그 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 폴리머라제에 의해 폴리머에 편입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드, 예컨대 메틸화된 뉴클레오타이드 및 그 유사체를 포함할 수 있다. 존재한다면, 뉴클레오타이드 구조에 대한 변형은 폴리머의 어셈블리 이전 또는 이후 부여될 수 있다. 뉴클레오타이드의 서열은 비-뉴클레오타이드 성분에 의해 저해될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 중합 이후, 예컨대 표지화 성분으로 콘주케이션에 의해 추가로 변형될 수 있다. 다른 유형의 변형은, 예를 들면, "캡(cap)", 천연 발생 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 유사체로의 치환, 뉴클레오타이드간 변형 예컨대, 예를 들면, 미충전된 연결기 (예를 들면, 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포아미데이트, 카바메이트 등) 및 충전된 연결기 (예를 들면, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등)를 갖는 것, 펜던트 모이어티, 예컨대, 예를 들면, 단백질 (예를 들면, 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 펩타이드, poly-L-라이신 등)을 함유하는 것, 삽입제 (예를 들면, 아크리딘, 소랄렌, 등)를 갖는 것, 퀼레이터 (예를 들면, 금속, 방사성 금속, 봉소, 산화적 금속, 등)를 함유하는 것, 알킬화제를 함유하는 것, 변형된 연결기 (예를 들면, 알파 아노머성 핵산, 등)를 갖는 것, 뿐만 아니라 비변형된 형태의 폴리뉴클레오타이드(들)를 포함한다. 게다가, 대개 당류에 존재하는 임의의 하이드록실기는, 예를 들면, 포스포네이트기, 포스페이트기로 의해 대체될 수 있거나, 표준 보호기에 의해 보호될 수 있거나, 또는 추가의 뉴클레오타이드에 대한 추가의 연결기를 제조하기 위해 활성화될 수 있거나, 또는 고체 지지체에 접합될 수 있다. 5' 및 3' 말단 OH는 1 내지 20개의 탄소 원자의 아민 또는 유기 캡핑 그룹 모이어티로 치환 또는 인산화될 수 있다. 다른 하이드록실은 또한 표준 보호기로 유도될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 또한, 예를 들면, 2'-0-메틸-, 2'-0-알릴, 2'-플루오로- 또는 2'-아지도-리보오스, 탄소환식 당 유사체,  $\alpha$ -아노머성 당, 에피머 당류 예컨대 아라비노오스, 자일로스 또는 릭소스, 파이라노스 당, 푸라노스 당, 세도헵툴로스, 비환식 유사체 및 무염기성 뉴클레오사이드 유사체 예컨대 메틸 리보사이드를 포함하는, 당해기술에 일반적으로 공지되는 리보오스 또는 데옥시리보스 당류의 유사 형태를 함유할 수 있다. 하나 이상의 포스포디에스테르 연결기는 대안적인 연결기에 의해 대체될 수 있다. 상기 대안적인 연결기는, 비제한적으로, 포스페이트가 P(O)S("티오에이트"), P(S)S ("디티오에이트"), (O)NR<sub>2</sub> ("아미데이트"), P(O)R, P(O)OR', CO 또는 CH<sub>2</sub> ("포름아세탈") (식중, 각각의 R 또는 R'는 독립적으로 H 또는 임의로 에테르 (-O-) 연결부, 아릴, 알케닐, 사이클로알케닐, 사이클로알케닐 또는 아랄딜을 함유하는 치환된 또는 비치환된 알킬 (1-20 C)이다)에 의해 대체되는 구현예를 포함한다. 폴리뉴클레오타이드에서 모든 연결기가 동일할 필요는 없다. 이전의 설명은 RNA 및 DNA를 포함하여 본원에서 지칭되는 모든 폴리뉴클레오타이드에 적용한다.

[0089]

항체의 "가변 영역"은 단독으로 또는 병용하여 항체 경쇄의 가변 영역 또는 항체 중쇄의 가변 영역을 지칭한다. 중쇄 및 경쇄 각각의 가변 영역은 초가변 영역으로 또한 공지된 3개의 상보성 결정 영역 (CDR)에 의해 연결된 4개의 프레임워크 영역 (FR)으로 이루어진다. 각각의 사슬에서 CDR는 FR에 의해 아주 근접해서 함께 유지되고, 그리고 다른 사슬로부터 CDR와 함께, 항체의 항원-결합 부위의 형성에 기여한다. CDR 결정을 위한 적어도 2 기술이 있다: (1) 교차종 서열 가변성에 기반한 접근법 (즉, Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, (5th ed., 1991, National Institutes of Health, Bethesda MD)); 및 (2) 항원-항체

복합체의 결정 연구에 기반한 접근법 (Al-lazikani et al (1997) *J. Molec. Biol.* 273:927-948)). 본원에서 사용된 바와 같이, CDR은 한쪽 접근법에 의해 또는 양쪽 접근법에 의해 정의된 CDR를 지칭할 수 있다.

[0090] 항체의 "불변 영역"은 단독으로 또는 병용하여 항체 경쇄의 불변 영역 또는 항체 중쇄의 불변 영역을 지칭한다.

[0091] 항체 또는 폴리펩타이드에 (본원에서 상호교환적으로 사용된) "우선적으로 결합하는" 또는 "특이적으로 결합하는" 에피토프는 당해기술에서 잘 이해되는 용어이고, 그리고 상기 특이적 또는 우선적 결합을 결정하는 방법은 또한 당해기술에서 잘 알려진다. 만일 대안적인 세포 또는 물질을 갖는 것보다 더 큰 지속시간 및/또는 특정한 세포 또는 물질과 더 큰 친화도로 더 자주, 더 빠르게 반응 또는 회합하면 분자는 "특이적 결합" 또는 "우선적 결합"을 나타내기 위해 지칭된다. 만일 다른 물질에 결합하는 것보다 더 큰 친화도, 결합능으로, 더욱 쉽게, 및/또는 더 큰 지속시간으로 결합하면 항체는 표적에 "특이적으로 결합한다" 또는 "우선적으로 결합한다". 예를 들면, CGRP 에피토프에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 항체는 다른 CGRP 에피토프 또는 비-CGRP 에피토프에 결합하는 것보다 더 큰 친화도, 결합능으로, 더욱 쉽게, 및/또는 더 큰 지속시간으로 상기 에피토프에 결합하는 항체이다. 예를 들면, 제1 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 항체 (또는 모이어티 또는 에피토프)가 제2 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합할 수 있거나 그렇지 않을 수 있다는 상기 정의의 관독으로 또한 이해된다. 이와 같이, "특이적 결합" 또는 "우선적 결합"은 필연적으로 (비록 포함할 수 있어도) 배타적인 결합을 요구하지 않는다. 일반적으로, 그러나 비필연적으로, 결합에 대한 참조는 우선적 결합을 의미한다.

[0092] 본원에서 사용된 바와 같이, "실질적으로 순수한"은 적어도 50% 순수한 (즉, 오염물질이 없는), 더 바람직하게는 적어도 90 % 순수한, 더 바람직하게는 적어도 95% 순수한, 더 바람직하게는 적어도 98% 순수한, 더 바람직하게는 적어도 99% 순수한 물질을 지칭한다.

[0093] "숙주세포"는 폴리뉴클레오타이드 삽입체의 편입을 위해 벡터(들)에 대한 수령체가 될 수 있거나 수령체인 개별 세포 또는 세포 배양을 포함한다. 숙주세포는 단일 숙주세포의 자손을 포함하고, 그리고 상기 자손은 필연적으로 천연, 우연, 또는 고의 돌연변이로 인해 최초 모 세포와 (형태학으로 또는 게놈 DNA 보체로) 완전히 동일하지 않을 수 있다. 숙주세포는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드(들)로 생체내 형질감염된 세포를 포함한다.

[0094] 용어 "Fc 영역"은 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하기 위해 사용된다. "Fc 영역"은 천연 서열 Fc 영역 또는 변이체 Fc 영역일 수 있다. 비록 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계가 다양할지라도, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 보통 위치 Cys226에서 아미노산 잔기로부터, 또는 Pro230으로부터 그 카복실-말단까지 확장하기 위해 정의된다. Fc 영역에서 잔기의 넘버링은 카밧에서와 같이 EU 지수의 것이다. Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991. 면역글로불린의 Fc 영역은 일반적으로 2개의 불변 도메인, CH2 및 CH3를 포함한다.

[0095] 본원에서 사용된 바와 같이, "Fc 수용체" 및 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 기재한다. 바람직한 FcR은 천연 서열 인간 FcR이다. 게다가, 바람직한 FcR은 IgG 항체 (감마 수용체)에 결합하는 것이고 그리고, 대립유전자 변이체 및 대안적으로 이들 수용체의 스플라이스된 형태를 포함하는, Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII, 및 Fc $\gamma$ RIII 하위부류의 수용체를 포함한다. Fc $\gamma$ RII 수용체는, 주로 그 세포질 도메인에서 상이한 유사 아미노산 서열을 갖는, Fc $\gamma$ RIIA ("활성 수용체") 및 Fc $\gamma$ RIIB ("억제 수용체")를 포함한다. FcRs는 하기에서 검토된다: Ravetch and Kinet, 1991, *Ann. Rev. Immunol.*, 9:457-92; Capel et al., 1994, *Immunomethods*, 4:25-34; 및 de Haas et al., 1995, *J. Lab. Clin. Med.*, 126:330-41. "FcR"은 또한 태아에 모계 IgGs의 전이를 책임지는 신생아 수용체, FcRn을 포함한다 (Guyer et al., 1976, *J. Immunol.*, 117:587; 및 Kim et al., 1994, *J. Immunol.*, 24:249).

[0096] "보체 의존적 세포독성" 및 "CDC"는 보체의 존재하에 표적의 용해를 지칭한다. 보체 활성화 경로는 동족 항원으로 복합된 분자 (예를 들면 항체)에 대한 보체계 (C1q)의 제1 성분의 결합에 의해 개시된다. 보체 활성화를 평가하기 위해, 예를 들면 Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods*, 202:163 (1996)에 기재된 바와 같이, CDC 검정이 수행될 수 있다.

[0097] "기능적 Fc 영역"은 천연 서열 Fc 영역의 적어도 하나의 효과기 기능을 소유한다. 예시적인 "효과기 기능"은 C1q 결합; 보체 의존적 세포독성 (CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존적 세포-매개된 세포독성 (ADCC); 식균작용; 세포 표면 수용체 (예를 들면 B 세포 수용체; BCR)의 다운-조절 등을 포함한다. 상기 효과기 기능은 일반적으로 결합 도메인 (예를 들면 항체 가변 도메인)과 조합되는 Fc 영역을 필요로 하고 그리고 상기 항체 효과기 기능 평가를 위해 당해기술에 공지된 다양한 검정을 이용하여 평가될 수 있다.

[0098] "천연 서열 Fc 영역"은 자연에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. "변이

체 Fc 영역"은 적어도 하나의 아미노산 변형 때문에 천연 서열 Fc 영역의 것으로부터 상이하지만, 여전히 천연 서열 Fc 영역의 적어도 하나의 효과기 기능을 보유하는 아미노산 서열을 포함한다. 바람직하게는, 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역에 또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역에 비교된 적어도 하나의 아미노산 치환, 예를 들면 천연 서열 Fc 영역에서 또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역에서 약 1 내지 약 10 아미노산 치환, 및 바람직하게는 약 1 내지 약 5 아미노산 치환을 갖는다. 본원에서 변이체 Fc 영역은 바람직하게는 천연 서열 Fc 영역 및/또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역과 적어도 약 80% 서열 동일성, 및 가장 바람직하게는 그와 적어도 약 90% 서열 동일성, 더 바람직하게는 그와 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 서열 동일성을 소유할 것이다.

[0099] 본원에서 사용된 바와 같이 "항체-의존적 세포-매개된 세포독성" 및 "ADCC"는 Fc 수용체 (FcRs) (예를 들면 천연 킬러 (NK) 세포, 중성구, 및 대식세포)를 발현하는 비특이적 세포독성 세포가 표적 세포에서 결합된 항체를 인식하고 그리고 차후에 표적 세포의 용해를 유발하는 세포-매개된 반응을 지칭한다. 관심 분자의 ADCC 활성은 시험관내 ADCC 검정, 예컨대 미국 특허 번호 5,500,362 또는 5,821,337에 기재된 것을 이용하여 평가될 수 있다. 상기 검정을 위한 유용한 효과기 세포는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 및 NK 세포를 포함한다. 대안적으로, 또는 추가로, 관심 분자의 ADCC 활성은, 예를 들면, 동물 모델 예컨대 Clynes et al., 1998, PNAS (USA), 95:652-656에 개시된 것에서 생체내 평가될 수 있다.

[0100] 본원에서 사용된 바와 같이, "치료"는 유익한 또는 원하는 임상 결과를 수득하기 위한 접근법이다. 본 발명의 목적을 위해, 유익한 또는 원하는 임상 결과는, 비제한적으로, 하기 중 하나 이상을 포함한다: 중증도 감소를 포함하는 두통의 임의의 측면에서 개선, 통증 세기의 완화, 및 다른 관련된 증상, 재발의 빈도 감소, 두통을 겪는 사람들의 삶의 질 증가, 및 두통을 치료하기 위해 필요한 다른 약물의 용량 감소. 편두통에 대해, 다른 관련된 증상은, 비제한적으로, 메스꺼움, 구토, 및 빛, 소리, 및/또는 운동에 대한 민감성을 포함한다. 군발성 두통에 대해, 다른 관련된 증상은, 비제한적으로, 눈밑 또는 눈 주위 팽윤, 과도한 눈물, 적안, 비루 또는 코 울혈, 및 흥조 안면을 포함한다.

[0101] 두통의 "발생빈도 감소"는 (편두통에 대하여, 예를 들면, 에르고타민, 디하이드로에르고타민, 또는 트립탄을 포함하는, 상기 질병에 일반적으로 사용된 다른 약물 및/또는 요법에 대한 필요성 및/또는 (예를 들면, 이에 대한 노출)의 양, 지속시간, 및/또는 빈도 (예를 들면, 개체에서 다음 간헐적 공격에 대한 시간의 지연 또는 증가 포함) 감소를 포함할 수 있는) 임의의 중증도 감소를 의미한다. 당해분야의 숙련가에 의해 이해되는 바와 같이, 개체는 치료에 대한 그 반응에 관하여 다양할 수 있고, 그리고, 이와 같이, 예를 들면, "개체에서 두통의 발생빈도 감소 방법"은 하기 투여가 상기 특정 개체에서 상기 발생빈도 감소를 쉽게 유발할 수 있는 합리적인 기대에 기반하여 항-CGRP 길항제 항체 투여를 반영한다.

[0102] 두통 또는 두통의 하나 이상의 증상 "완화"는 항-CGRP 길항제 항체 비투여와 비교시 두통의 하나 이상의 증상의 감소 또는 개선을 의미한다. "완화"는 또한 증상의 지속시간 단축 또는 감소를 포함한다.

[0103] 본원에서 사용된 바와 같이, "두통 제어"는 (치료 이전 수준과 비교시) 개체에서 두통의 하나 이상의 증상의 중증도 또는 지속시간 혹은 두통 공격의 빈도 유지 또는 감소를 지칭한다. 예를 들면, 머리 통증의 지속시간 또는 중증도, 또는 공격의 빈도는 치료 이전 수준과 비교시 개체에서 적어도 약 임의의 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 또는 70%만큼 감소된다.

[0104] 본원에서 사용된 바와 같이, "두통 시간"은 대상체가 두통을 겪는 동안의 시간을 지칭한다. 두통 시간은 전체 시간 (예를 들면, 1 두통 시간, 2 두통 시간, 3 두통 시간, 등)에 관하여 또는 전체 및 부분 시간 (예를 들면, 0.5 두통 시간, 1.2 두통 시간, 2.67 두통 시간, 등)에 관하여 발현될 수 있다. 1 이상 두통 시간은 특정한 시간 간격에 대하여 기재될 수 있다. 예를 들면, "매일 두통 시간"은 대상체가 1 일 간격 (예를 들면, 24-시간 기간)이내에 겪는 두통 시간의 수를 지칭할 수 있다. 또 다른 예에서, "매주 두통 시간"은 대상체가 1 주 간격 (예를 들면, 7-일 기간)이내에 겪는 두통 시간의 수를 지칭할 수 있다. 인정되는 바와 같이, 주 간격은 역주 (calendar week)에 상응할 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 또 다른 예에서, "매달 두통 시간"은 대상체가 1 개월 간격 이내에 겪는 두통 시간의 수를 지칭할 수 있다. 인정되는 바와 같이, 1 개월 간격 (예를 들면, 28-31 일의 기간)은 특정한 개월에 따라 일의 수에 관하여 다양할 수 있고 그리고 역월에 상응할 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 추가의 또 다른 예에서, "매년 두통 시간"은 대상체가 1 년 간격 이내에 겪는 두통 시간의 수를 지칭할 수 있다. 인정되는 바와 같이, 1 년 간격 (예를 들면, 365 또는 366 일의 기간)은 특정한 년에 따라 일의 수에 관하여 다양할 수 있고 그리고 역년에 상응할 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 일부 구현예에서, 두통 시간은 특정한 유형의 두통 (예를 들면, 편두통, 군발성 두통, 만성적 두통, 및 긴장성 두통)을 참조할 수 있다.

예를 들면 "편두통 시간"은 대상체가 편두통을 겪는 동안의 시간을 지칭할 수 있다.

[0105] 본원에서 사용된 바와 같이, "두통 일"은 대상체가 두통을 겪는 동안의 일을 지칭한다. 두통 일은 전체 일 (예를 들면, 1 두통 일, 2 두통 일, 3 두통 일, 등)에 관하여 또는 전체 및 부분 일 (예를 들면, 0.5 두통 일, 1.2 두통 일, 2.67 두통 일, 등)에 관하여 발현될 수 있다. 1 이상 두통 일은 특정한 시간 간격에 대하여 기재될 수 있다. 예를 들면, "매주 두통 일"은 대상체가 1 주 간격 (예를 들면, 7-일 기간)이내에 겪는 두통 일의 수를 지칭할 수 있다. 인정되는 바와 같이, 주 간격은 역주에 상응할 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 또 다른 예에서, "매달 두통 일"은 대상체가 1 개월 간격 이내에 겪는 두통 일의 수를 지칭할 수 있다. 인정되는 바와 같이, 1 개월 간격 (예를 들면, 28-31 일의 기간)은 특정한 개월에 따라 일의 수에 관하여 다양할 수 있고 그리고 역월에 상응할 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 추가의 또 다른 예에서, "매년 두통 일"은 대상체가 1 년 간격 이내에 겪는 두통 일의 수를 지칭할 수 있다. 인정되는 바와 같이, 1 년 간격 (예를 들면, 365 또는 366 일의 기간)은 특정한 년에 따라 일의 수에 관하여 다양할 수 있고 그리고 역년에 상응할 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 일부 구현예에서, 두통 일은 특정한 유형의 두통 (예를 들면, 편두통, 군발성 두통, 만성적 두통, 및 긴장성 두통)을 참조할 수 있다. 예를 들면 "편두통 일"은 대상체가 편두통을 겪는 동안의 일을 지칭할 수 있다.

[0106] 본원에서 사용된 바와 같이, 두통의 발달 "지연"은 질환의 진행을 보류, 저해, 지체, 저지, 안정화, 및/또는 연기하는 것을 의미한다. 상기 지연은 질환의 이력 및/또는 치료받는 개체에 따라 다양한 시간의 길이일 수 있다. 당해분야의 숙련가에게 명백한 바와 같이, 충분한 또는 유의미한 지연은, 사실상, 개체가 두통 (예를 들면, 편두통)을 발달시키지 않는다는 점에서, 예방을 포함할 수 있다. 증상의 발달을 "지연시키는" 방법은, 상기 방법을 사용하지 않는 것과 비교되는 경우, 주어진 시간 프레임에서 증상 발달의 가능성을 감소시키는 및/또는 주어진 시간 프레임에서 증상의 범위를 감소시키는 방법이다. 상기 비교는 대상체의 통계적으로 유의미한 수를 이용하는 전형적으로 임상 연구에 기반한다.

[0107] 두통의 "발달" 또는 "진행"은 장애의 초기 징후 및/또는 뒤이은 진행을 의미한다. 두통의 발달은 당해기술에서 잘 알려진 바와 같이 표준 임상 기술을 이용하여 검출 및 평가될 수 있다. 그러나, 발달은 또한 검출불가능할 수 있는 진행을 지칭한다. 본 개시내용의 목적을 위해, 발달 또는 진행은 증상의 생물학적 과정을 지칭한다. "발달"은 발생, 재발, 및 개시를 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이 두통의 "개시" 또는 "발생"은 초기 개시 및/또는 재발을 포함한다.

[0108] 본원에서 사용된 바와 같이, 약물, 화합물, 또는 약제학적 조성물의 "효과적인 투여량" 또는 "효과적인 양"은 유익한 또는 원하는 결과를 가져오는데 충분한 양이다. 예방 용도를 위해, 유익한 또는 원하는 결과는 결과 예컨대 위험 제거 또는 감소, 중증도 약화, 또는 질환의 생화학적, 조직학적 및/또는 행동 증상, 질환의 발달 동안 나타나는 그 합병증 및 중간체 병리적 표현형을 포함하는, 질환의 개시 지연을 포함한다. 치료 용도를 위해, 유익한 또는 원하는 결과는 임상 결과 예컨대 통증 세기, 지속시간, 또는 두통 공격의 빈도 감소, 및, 질환의 발달 동안 나타나는 그 합병증 및 중간체 병리적 표현형을 포함하는, 두통 (생화학적, 조직학적 및/또는 행동적)에서 비롯되는 하나 이상의 증상 감소, 질환을 겪는 사람들의 삶의 질 증가, 질환을 치료하는데 필요한 다른 약물의 용량 감소, 또 다른 약물의 효과 증진, 및/또는 환자 질환의 진행 지연을 포함한다. 효과적인 복용량은 하나 이상의 투여로 투여될 수 있다. 본 개시내용의 목적을 위해, 약물, 화합물, 또는 약제학적 조성물의 효과적인 복용량은 직접적으로 또는 간접적으로 예방적 또는 치료적 처치를 달성하는데 충분한 양이다. 임상 맥락에서 이해되는 바와 같이, 약물, 화합물, 또는 약제학적 조성물의 효과적인 복용량은 또 다른 약물, 화합물, 또는 약제학적 조성물과 함께 달성될 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 따라서, "효과적인 복용량"은 하나 이상의 치료제 투여의 맥락에서 고려될 수 있고, 그리고 만일 하나 이상의 다른 제제와 함께 바람직한 결과가 달성될 수 있거나 달성되면 단일 제제는 효과적인 양으로 제공되는 것으로 고려될 수 있다.

[0109] "개체" 또는 "대상체"는 포유동물, 더 바람직하게는 인간이다. 포유동물은 또한, 비제한적으로, 농장 동물, 스포츠 동물, 애완동물, 영장류, 말, 개, 고양이, 마우스 및 랙트를 포함한다.

[0110] 본원에서 사용된 바와 같이, "벡터"는 숙주세포에서 관심 하나 이상의 유전자(들) 또는 서열(들)을 전달, 및 바람직하게는 발현시킬 수 있는 작제물을 의미한다. 벡터의 예는, 비제한적으로, 바이러스 벡터, 노출 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 플라스미드, 코스미드 또는 파아지 벡터, 양이온성 축합제와 관련된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 리포좀에서 캡슐화된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 및 특정 진핵 세포, 예컨대 생산자 세포를 포함한다.

[0111] 본원에서 사용된 바와 같이, "발현 조절 서열"은 핵산의 전사를 인도하는 핵산 서열을 의미한다. 발현 조절 서열은 프로모터, 예컨대 항시적 또는 유도성 프로모터, 또는 인핸서일 수 있다. 발현 조절 서열은 전사되는 핵산 서열에 작동가능하게 연결된다.

- [0112] 본원에서 사용된 바와 같이, "약제학적으로 허용가능한 담체" 또는 "약제학적 허용가능한 부형제"는 활성 성분과 조합되는 경우, 성분이 생물학적 활성을 보유하도록 하고, 그리고 대상체의 면역계와 비-반응성인 임의의 물질을 포함한다. 예는, 비제한적으로, 임의의 표준 약제학적 담체 예컨대 포스페이트 완충된 염수 용액, 물, 에멀젼 예컨대 오일/물 에멀젼, 및 다양한 유형의 습윤제를 포함한다. 에어로졸 또는 비경구 투여를 위한 바람직한 허석체는 포스페이트 완충된 염수 또는 생리식염수 (0.9%) 이다. 상기 담체를 포함하는 조성물은 널리 공지된 종래의 방법에 의해 제형화된다 (참고, 예를 들면, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990; 및 Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. Mack Publishing, 2000).
- [0113] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 " $k_{on}$ "는 항원에 대한 항체의 회합에 대한 속도 상수를 지칭하는 것으로 의도된다.
- [0114] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 " $k_{off}$ "는 항체/항원 복합체로부터 항체의 해리에 대한 속도 상수를 지칭하는 것으로 의도된다.
- [0115] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 " $K_D$ "는 항체-항원 상호작용의 평형 해리 상수를 지칭하는 것으로 의도된다.
- [0116] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "혈관운동 증상"은 혈관확장에 관련된 질병을 지칭하는 것으로 의도된다. 상기 혈관확장은 하기와 관련될 수 있거나 또는 잠재적으로 관련될 수 있다: 두통 (예컨대 조짐 있거나 없이 편두통; 편마비성 편두통; 만성적 편두통; 간헐적 편두통; 높은 빈도 간헐적 편두통; 군발성 두통; 편두통성 신경통; 만성적 두통; 긴장성 두통; 다른 의학적 질병에서 비롯되는 두통 (예컨대 종양 때문에 두개골에서 감염 또는 증가된 압력); 만성적 발작성 편두통; 구조적 병변과 관련되지 않은 여러 종류의 두통; 비-혈관 두개내 장애와 관련된 두통; 물질의 투여 또는 그 회수와 관련된 두통; 비두부 감염과 관련된 두통; 대사성 장애와 관련된 두통; 두개골, 목, 눈, 귀, 코, 부비강, 치아, 입 또는 다른 얼굴 또는 두개 구조의 장애와 관련된 두통; 두개 신경통; 및 신경간 통증 및 구심로차단 통증), 특히, 체온조절 기능이상에 의해 야기된 열감 (또는 일과성 열감), 냉 열감, 불면증, 수면 저해, 기분 장애, 자극감수성, 과도한 발한, 식은땀, 일 땀, 피로 등.
- [0117] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어들 "홍조", "열감" 및 "일과성 열감"은 대상체에서 발한에 의해 보통 동반된, 갑작스러운 피부 홍조로 전형적으로 이루어지는 체온의 간헐적 저해를 지칭하는 기술-인식된 용어들이다.
- [0118] A. 혈관운동 증상 및/또는 두통의 예방 또는 치료 방법
- [0119] 일 측면에서, 본 발명은 대상체에서 적어도 하나의 혈관운동 증상의 치료 또는 발생빈도 감소 방법을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상체에서 두통 (예를 들면, 편두통)의 치료 또는 발생빈도 감소 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 CGRP 경로를 조정하는 항체로부터 유도된 유효량의 항체 또는 폴리펩타이드 (예를 들면 단클론성 항-CGRP 길항제 항체)를 상기 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 혈관운동 증상은 두통 (예를 들면, 편두통) 및/또는 열감과 관련될 수 있다.
- [0120] 또 다른 측면에서, 본 발명은 유효량의 항-CGRP 길항제 항체를 상기 개체에게 투여하는 것을 포함하는 개체에서 적어도 하나의 혈관운동 증상의 완화, 제어, 발생빈도 감소, 또는 발달 또는 진행 지연 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 혈관운동 증상은 두통 (예를 들면, 편두통) 및/또는 열감과 관련될 수 있다.
- [0121] 또 다른 측면에서, 본 발명은 CGRP 경로를 조정하는 항체 또는 항-CGRP 길항제 항체의 유효량을 두통 치료에 유용한 적어도 하나의 추가 제제와 조합으로 상기 개체에게 투여하는 것을 포함하는 개체에서 두통 (예를 들면, 편두통) 또는 두통과 관련된 증상 (예를 들면, 설사 또는 광 민감성)의 완화, 제어, 발생빈도 감소, 또는 발달 또는 진행 지연 방법을 제공한다.
- [0122] 상기 추가 제제는, 비제한적으로, 5-HT 작용제 및 NSAID를 포함한다. 예를 들면, 항체 및 적어도 하나의 추가 제제는 부수적으로 투여될 수 있다, 즉, 이들은 아주 충분히 일시적 근접해서 제공되어 그 개별적인 치료 효과를 중복하게 할 수 있다. 예를 들면, 항-CGRP 항체와 조합으로 투여된 5-HT 작용제 또는 NSAID의 양은 기타의 부재하에 상기 제제들 중 하나의 투여와 비교로 환자에서 두통 재발의 빈도를 감소시키는데 또는 더 긴 지속 효능을 생성하는데 충분해야 한다. 이러한 절차는 하기를 포함하는 임의의 다양한 부류에 속하는 두통을 치료하는데 사용될 수 있다: 조짐 있거나 없이 편두통; 편마비성 편두통; 만성적 편두통; 간헐적 편두통; 높은 빈도 간헐적 편두통; 군발성 두통; 편두통성 신경통; 만성적 두통; 긴장성 두통; 다른 의학적 질병에서 비롯되는 두통 (예컨대 종양 때문에 두개골에서 감염 또는 증가된 압력); 만성적 발작성 편두통; 구조적 병변과 관련되지 않은 여러 종류의 두통; 비-혈관 두개내 장애와 관련된 두통; 물질의 투여 또는 그 회수와 관련된 두통; 비두부 감염

과 관련된 두통; 대사성 장애와 관련된 두통; 두개골, 목, 눈, 귀, 코, 부비강, 치아, 입 또는 다른 얼굴 또는 두개 구조의 장애와 관련된 두통; 두개 신경통; 및 신경간 통증 및 구심로차단 통증.

- [0123] 항-CGRP 길항제 항체와 조합으로 투여될 수 있는 추가 제제의 추가의 비-제한적인 예는 하기 중 하나 이상을 포함한다:
- [0124] (i) 오피오이드 진통제, 예를 들면, 모르핀, 헤로인, 하이드로모르פון, 옥시모르פון, 레보르파놀, 베발로르판, 메타돈, 메페리딘, 펜타닐, 코카인, 코데인, 디하이드로코데인, 옥시코돈, 하이드로코돈, 프로폭시펜, 날메펜, 날로르핀, 날록손, 날트렉손, 부프레노르핀, 부토르파놀, 날부핀 또는 펜타조신;
- [0125] (ii) 비스테로이드 항염증 약물 (NSAID), 예를 들면, 아스피린, 디클로페낙, 디플루시날, 에토돌락, 펜부펜, 페노프로펜, 플루페니살, 플루르바이프로펜, 이부프로펜, 인도메타신, 케토프로펜, 케토록락, 메클로페남산, 메페남산, 나부메톤, 나프록센, 옥사프로진, 페닐부타존, 퍼록시캄, 설린닥, 톨메틴 또는 조메피락, 사이클로옥시개나제-2 (COX-2) 저해제, 셀레콕십; 로페콕십; 멜록시캄; JTE-522; L-745,337; NS398; 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염;
- [0126] (iii) 바르비투레이트 진정제, 예를 들면, 아모바르비탈, 아프로바르비탈, 부타바르비탈, 부타비탈, 메포바르비탈, 메타르비탈, 메토헥시탈, 웜토바르비탈, 페노바르티탈, 세코바르비탈, 탈부탈, 테아밀랄 또는 티오펜탈 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염;
- [0127] (iv) 바르비투레이트 진통제, 예를 들면, 부탈비탈 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염 또는 부탈비탈을 포함하는 조성물,
- [0128] (v) 진정제 작용을 갖는 벤조디아제핀, 예를 들면, 클로르디아제폭시드, 클로르아제페이트, 디아제팜, 플루라제팜, 로라제팜, 옥사제팜, 테마제팜 또는 트리아졸람 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염;
- [0129] (vi) 진정제 작용을 갖는 H<sub>1</sub> 길항제, 예를 들면, 디펜히드라민, 파이릴아민, 프로메타진, 클로르페니라민 또는 클로르사이클리진 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염;
- [0130] (vii) 진정제 예컨대 글루테티마이드, 메프로바메이트, 메타쿠알론 또는 디클로랄페나존 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염;
- [0131] (viii) 골격 근육 이완제, 예를 들면, 바클로펜, 카리소프로돌, 클로로족사존, 사이클로벤자프린, 메토카바몰 또는 오르프레나딘 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염;
- [0132] (ix) NMDA 수용체 길항제, 예를 들면, 텍스트로메토르판 ((+)-3-하이드록시-N-메틸모르피난) 또는 그 대사물 텍스트로판 ((+)-3-하이드록시-N-메틸모르피난), 케타민, 메만틴, 피롤로퀴놀린 쿠논 또는 시스-4-(포스포노메틸)-2-피페리딘카복실산 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염;
- [0133] (x) 알파-아드레날린, 예를 들면, 독사조신, 탐설로신, 클로니딘 또는 4-아미노-6,7-디메톡시-2-(5-메탄설폰아미도-1,2,3,4-비스테트라하이드로이소퀴놀-2-일)-5-(2-피리딜) 쿠나졸린;
- [0134] (xi) 트리사이클릭 항우울제, 예를 들면, 데시프라민, 이미프라민, 아미트립틸린 또는 노르트립틸린;
- [0135] (xii) 항경련제, 예를 들면, 카bam아제핀 또는 발프로에이트;
- [0136] (xiii) 타카키닌 (NK) 길항제, 특히 NK-3, NK-2 또는 NK-1 길항제, 예를 들면 (aR,9R)-7-[3,5-비스(트리플루오로메틸)벤질]-8,9,10,11-비스테트라하이드로-9-메틸-5-(4-메틸페닐)-7H-[1,4]디아조시노[2,1-g][1,7]나프트리딘-6-13-디온 (TAK-637), 5-[[2R,3S]-2-[(1R)-1-[3,5-비스(트리플루오로메틸)페닐]에톡시-3-(4-플루오로페닐)-4-모폴리닐]메틸]-1,2-디하이드로-3H-1,2,4-트리아졸-3-온 (MK-869), 라네피탄트, 다피탄트 또는 3-[[2-메톡시-5-(트리플루오로메톡시)페닐]메틸아미노]-2-페닐-피페리딘 (2S,3S);
- [0137] (xiv) 무스카린성 길항제, 예를 들면, 옥시부틴, 톤테로딘, 프로피베린, 트리피시움 클로라이드 또는 다리페나신;
- [0138] (xv) COX-2 저해제, 예를 들면, 셀레콕십, 로페콕십 또는 발데콕십;
- [0139] (xvi) 비-선택적 COX 저해제 (바람직하게는 GI 보호를 갖는), 예를 들면, 니트로플루르바이프로펜 (HCT-1026);
- [0140] (xvii) 콜타르 진통제, 특히 파라세타몰;

- [0141] (xviii) 신경이완제 예컨대 드로페리돌;
- [0142] (xix) 바닐로이드 수용체 작용제 (예를 들면, 레신페라톡신) 또는 길항제 (예를 들면, 캡사제핀);
- [0143] (xix) 베타-아드레날린 예컨대 프로프라놀롤;
- [0144] (xx) 국소 마취약, 예컨대 맥실레틴;
- [0145] (xxi) 코르티코스테로이드, 예컨대 텍사메타손;
- [0146] (xxii) 세로토닌 수용체 작용제 또는 길항제;
- [0147] (xxiii) 콜린성 (니코틴산) 진통제;
- [0148] (xxiv) 트라마돌 (상표명);
- [0149] (xxv) PDEV 저해제, 예컨대 실테나필, 바르테나필 또는 탈라다필;
- [0150] (xxvi) 알파-2-델타 리간드 예컨대 가바펜틴 또는 프레가발린;
- [0151] (xxvii) 카나비노이드; 및
- [0152] (xxviii) 항우울제, 예컨대 아미트립틸린 (Elavil), 트라조돈 (Desyrel), 및 이미프라민 (Tofranil) 또는 항경련제 예컨대 페나이토인 (Dilantin) 또는 카밤아제핀 (Tegretol).
- [0153] 당해분야의 숙련가는 항-CGRP 항체와 조합으로 사용되는 특정한 제제를 위해 적절한 복용량을 결정할 수 있을 것이다. 예를 들면, 수마트립탄은 복용량 약 0.01 내지 약 300 mg으로 투여될 수 있다. 일부 경우에서, 수마트립탄은 복용량 2 mg 내지 300 mg으로 투여될 수 있다. 비-비경구로 투여된 경우, 수마트립탄의 전형적인 복용량은 약 25 내지 약 100 mg이고 약 50 mg이 일반적으로 바람직하고, 그리고 비경구로 투여된 경우, 바람직한 복용량은 약 6 mg이다. 그러나, 이를 복용량은 당해기술에서 표준 방법에 따라 다양할 수 있어서 이로써 이들은 특정한 환자에 또는 특정한 병용 요법에 최적화된다. 게다가, 예를 들면, 셀레콕십은 50 내지 500 mg 사이의 양으로 투여될 수 있다.
- [0154] 또 다른 측면에서, 본 발명은 열감의 치료에 유용한 적어도 하나의 추가 제제와 조합으로 유효량의 항-CGRP 길항제 항체를 하기 개체에게 투여하는 것을 포함하는 개체에서 열감의 완화, 제어, 발생빈도 감소, 또는 발달 또는 진행 지연 방법을 제공한다. 상기 추가 제제는, 비제한적으로, 에스트로겐 및/또는 일부 프로게스틴을 포함하는, 호르몬-기반 치료를 포함한다.
- [0155] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체 (예를 들면, 단클론성, 항-CGRP 길항제 항체)의 양을 복수의 일에 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 대상체에서 두통 (예를 들면, 편두통)의 치료 또는 발생빈도 감소 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 각각의 복수의 일에 투여된 단클론성 항체의 양은 0.1 mg - 5000 mg, 1 mg - 5000 mg, 10 mg - 5000 mg, 100 mg - 5000 mg, 1000 mg - 5000 mg, 0.1 mg - 4000 mg, 1 mg - 4000 mg, 10 mg - 4000 mg, 100 mg - 4000 mg, 1000 mg - 4000 mg, 0.1 mg - 3000 mg, 1 mg - 3000 mg, 10 mg - 3000 mg, 100 mg - 3000 mg, 1000 mg - 3000 mg, 0.1 mg - 2000 mg, 1 mg - 2000 mg, 10 mg - 2000 mg, 100 mg - 2000 mg, 1000 mg - 2000 mg, 0.1 mg - 1000 mg, 1 mg - 1000 mg, 10 mg - 1000 mg 또는 100 mg - 1000 mg 사이일 수 있다. 일부 구현예에서, 양은 100 - 2000 mg 사이이다.
- [0156] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 CGRP 경로를 조정하는 양으로 단클론성 항체 (예를 들면, 단클론성, 항-CGRP 길항제 항체)의 단회 용량을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 대상체에서 두통 (예를 들면, 편두통)의 치료 또는 발생빈도 감소 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 단회 용량은 항체의 양 0.1 mg - 5000 mg, 1 mg - 5000 mg, 10 mg - 5000 mg, 100 mg - 5000 mg, 1000 mg - 5000 mg, 0.1 mg - 4000 mg, 1 mg - 4000 mg, 10 mg - 4000 mg, 100 mg - 4000 mg, 1000 mg - 4000 mg, 0.1 mg - 3000 mg, 1 mg - 3000 mg, 10 mg - 3000 mg, 100 mg - 3000 mg, 1000 mg - 3000 mg, 0.1 mg - 2000 mg, 1 mg - 2000 mg, 10 mg - 2000 mg, 100 mg - 2000 mg, 1000 mg - 2000 mg, 0.1 mg - 1000 mg, 1 mg - 1000 mg, 10 mg - 1000 mg 또는 100 mg - 1000 mg 사이일 수 있다. 일부 구현예에서, 단회 용량은 항체의 양 100 - 2000 mg 사이일 수 있다.
- [0157] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체 (예를 들면, 단클론성, 항-CGRP 길항제 항체)의 양을 복수의 일에 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 대상체에서 적어도 하나의 혈관운동 증상의 치료 또는 발생빈도 감소 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 각각의 복수의 일에 투여된 단클론성 항체의 양은 0.1 mg - 5000 mg, 1 mg - 5000 mg, 10 mg - 5000 mg, 100 mg - 5000 mg, 1000 mg - 5000 mg, 0.1 mg - 4000

mg, 1 mg - 4000 mg, 10 mg - 4000 mg, 100 mg - 4000 mg, 1000 mg - 4000 mg, 0.1 mg - 3000 mg, 1 mg - 3000 mg, 10 mg - 3000 mg, 100 mg - 3000 mg, 1000 mg - 3000 mg, 0.1 mg - 2000 mg, 1 mg - 2000 mg, 10 mg - 2000 mg, 100 mg - 2000 mg, 1000 mg - 2000 mg, 0.1 mg - 1000 mg, 1 mg - 1000 mg, 10 mg - 1000 mg 또는 100 mg - 1000 mg 사이일 수 있다. 일부 구현예에서, 양은 100 - 2000 mg 사이이다.

[0158] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체 (예를 들면, 단클론성, 항-CGRP 길항제 항체)의 양을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에 의해 겪는 다수의 매달 두통 시간의 수의 감소 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 단회 복용 이후 적어도 0.1, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 이상 두통 시간만큼 매달 두통 시간의 수를 감소시키는데 효과적인 양일 수 있다. 일부 구현예에서, 단클론성은 단회 복용 이후 적어도 20 두통 시간만큼 매달 두통 시간의 수를 감소시키는데 효과적인 양일 수 있다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 적어도 40 두통 시간만큼 매달 두통 시간의 수를 감소시키는데 효과적인 양일 수 있다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 단회 복용 이후 적어도 0.1%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 이상만큼 매달 두통 시간의 수를 감소시키는데 효과적인 양일 수 있다. 일부 구현예에서, 단클론성은 단회 복용 이후 적어도 15%만큼 매달 두통 시간의 수를 감소시키는데 효과적인 양일 수 있다.

[0159] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체 (예를 들면, 단클론성, 항-CGRP 길항제 항체)의 양을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에 의해 겪는 다수의 매달 두통 일의 수의 감소 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 단회 복용 이후 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 이상 두통 일만큼 매달 두통 일의 수를 감소시키는데 효과적인 양일 수 있다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 단회 복용 이후 적어도 3 두통 일만큼 매달 두통 일의 수를 감소시키는데 효과적인 양일 수 있다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 단회 복용 이후 적어도 0.1%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 이상만큼 매달 두통 일의 수를 감소시키는데 효과적인 양일 수 있다.

[0160] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체 (예를 들면, 단클론성 항-CGRP 길항제 항체)를 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 항-두통 약물의 사용의 감소 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 적어도 0.1%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 이상만큼 대상체에 의해 항-두통 약물의 매달 사용을 감소시키는데 효과적인 양일 수 있다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 적어도 15%만큼 대상체에 의해 항-두통 약물의 매달 사용을 감소시키는데 효과적인 양일 수 있다. 항-두통 약물은 본원에서 다른곳에 기재된 임의의 유형의 항-두통 약물일 수 있다. 항-두통 약물의 비-제한적인 예는 하기를 포함한다: 5-HT1 작용제 (및 다른 5-HT1 부위에서 작용하는 작용제), 트립탄 (예를 들면, 수마트립탄, 졸미트립탄, 나라트립탄, 리자트립탄, 엘레트립탄, 알모트립탄, 아프로바트립탄), 맥각 알칼로이드 (예를 들면, 에르고타민 타르트레이트, 에르고노빈 말레이트, 및 에르골로이드 메실레이트 (예를 들면, 디하이드로에르고코르닌, 디하이드로에르고크리스틴, 디하이드로에르고크립틴, 및 디하이드로에르고타민 메실레이트 (DHE 45)) 및 비-스테로이드 항-염증성 약물 (NSAIDs) (예를 들면, 아스피린, 디클로페낙, 디플루시날, 에토돌락, 펜부펜, 페노프로펜, 플루페니살, 플루르바이프로펜, 이부프로펜, 인도메타신, 케토프로펜, 케토록락, 메클로페남산, 메페남산, 나부메톤, 나프록센, 옥사프로진, 페닐부타존, 피록시캄, 설린닥, 톨메틴 또는 조메피락, 사이클로옥시게나제-2 (COX-2) 저해제, 셀레콕십; 로페콕십; 멜록시캄; JTE-522; L-745,337; NS398; 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염), 아편제 (예를 들면, 옥시코돈) 및  $\beta$ -아드레날린 길항제 (예를 들면, 프로프라놀롤).

[0161] 본원에서 기재된 모든 방법에 대해, 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항제 항체, 단클론성 항-CGRP 길항제 항체)에 대한 참조는 또한 상기 제제들 중 하나 이상을 포함하는 조성물을 포함한다. 따라서, 상기 조성물은 본원에 기재된 항체를 참조하는 방법에 따라 사용될 수 있다. 상기 조성물은 추가로 적합한 부형제, 예컨대 본원에서 다른 곳에 기재된 바와 같이 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함할 수 있다. 본 발명은 단독으로 또는 다른 종래의 치료 방법과 병용하여 사용될 수 있다.

[0162] 본원에 기재된 항체 (예를 들면, 단클론성 항체, 항-CGRP 길항제 항체, 단클론성 항-CGRP 길항제 항체)는 임의의 치료적 용량으로, 임의의 적합한 경로를 통해 그리고 임의의 적합한 제형으로 개체 또는 대상체에게 투여될 수 있다. 본원에 기재된 실시예는 이용가능한 기술의 제한이 아니라 예증적임을 의도하는 것이 당해분야의 숙련가에게 분명해야 한다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 공지된 방법, 예컨대 정맥내 투여, 예를 들면, 볼러스로서 또는 일정 기간에 걸쳐 연속 주입에 의해, 근육내로, 복강내로, 뇌내척수로, 피하로, 관절

내로, 설하로, 동맥내로, 활막내로, 쥐입을 통해, 척추강내, 경구, 흡입, 비강내 (예를 들면, 흡입 있거나 없이), 구강, 직장, 경피, 심장내, 골내, 진피내, 경점막, 질, 유리체내, 관절주위, 국소, 표피, 또는 국소 경로를 따라 개체에게 투여될 수 있다. 투여는 전신, 예를 들면, 정맥내 투여, 또는 국체화될 수 있다. 젯트 분무기 및 초음파 분무기를 포함하는, 액체 제형에 대해 상업적으로 이용가능한 분무기는 투여에 유용하다. 액체 제형은 직접적으로 분무될 수 있고 그리고 동결건조된 분말이 재구성 이후 분무될 수 있다. 대안적으로, 본원에 기재된 항체는 플루오로카본 제형 및 정량 흡입기를 이용하여 에어로졸화될 수 있거나, 또는 동결건조된 및 밀링된 분말로서 흡입될 수 있다.

[0163] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 부위-특이적인 또는 표적화된 국소 전달 기술을 통해 투여될 수 있다. 부위-특이적인 또는 표적화된 국소 전달 기술의 예는 항체의 다양한 이식가능 데포 공급원 또는 국소 전달 카테터, 예컨대 주입 카테터, 유치 카테터, 또는 바늘 카테터, 합성 그라프트, 외막 랩, 션트 및 스텐트 또는 다른 이식가능 디바이스, 부위 특이적 담체, 직접적인 주사, 또는 직접적인 적용을 포함한다. 참고 예를 들면, PCT 공개 번호 WO 00/53211 및 미국 특허 번호 5,981,568.

[0164] 본원에 기재된 항체의 다양한 제형은 투여에 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 순수 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체 및 약제학적으로 허용가능한 부형제는 다양한 제형일 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 부형제는 당해기술에 공지되어 있고, 그리고 약리적으로 효과적인 물질의 투여를 촉진시키는 상대적으로 불활성 물질이다. 예를 들면, 부형제는 형태 또는 일관성을 제공할 수 있거나, 또는 희석제로서 작용할 수 있다. 적합한 부형제는 비제한적으로 안정제, 습윤 및 유화제, 다양한 오스몰농도용 염, 캡슐화 제제, 버퍼, 및 피부 침투 증진제를 포함한다. 비경구 및 비비경구 약물 전달을 위한 부형제 뿐만 아니라 제형은 하기제시된다: Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. Mack Publishing (2000).

[0165] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체를 포함하는, 상기 제제들은 주사로 (예를 들면, 복강내로, 정맥내로, 피하로, 근육내로, 등) 투여를 위해 제형화될 수 있다. 따라서, 상기 제제들은 약제학적으로 허용가능한 비허를 예컨대 염수, 립거액, 텍스트로오스 용액 등과 조합될 수 있다. 특정한 복용량 요법, 즉, 용량, 타이밍 및 반복은 특정한 개체 및 그 개체의 병력에 의존할 것이다.

[0166] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체를 포함하는, 상기 제제들은 말초 투여를 위해 제형화될 수 있다. 상기 제형은, 정맥내 및 피하를 포함하는, 임의의 적합한 말초 경로를 통해 말초로 투여될 수 있다. 말초 투여를 위해 제조된 제제는 CNS에 집중적으로, 척추로, 척추강내로, 또는 직접적으로 전달되지 않는 물질, 약제, 및/또는 항체를 포함할 수 있다. 말초 투여 경로의 비-제한적인 예는 경구, 설하, 구강, 국소, 직장, 흡입을 통해, 경피, 피하, 정맥내, 동맥내, 근육내, 심장내, 뼈내, 진피내, 복강내, 경점막, 질, 유리체내, 관절내, 관절주위, 국소, 또는 표피인 경로를 포함한다.

[0167] 본 개시내용에 따라 사용된 항체의 치료적 제형은 원하는 정도의 순도를 갖는 항체를 선택적인 약제학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 안정제와 혼합함으로써 보관 및/또는 사용을 위해 제조될 수 있고 (Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. Mack Publishing (2000)), 그리고 일부 경우에서 동결건조된 제형 또는 수용액의 형태일 수 있다. 허용가능한 담체, 부형제, 또는 안정제는 이용된 복용량 및 농도에서 수령체에 대해 비독성이다. 항체의 치료적 제형은 하기를 포함하는 하기 종의 비-제한적인 예로 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 안정제(stabilizes)를 포함할 수 있다: 버퍼 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기 산; 염 예컨대 염화나트륨; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜타놀; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10 미만 잔기) 폴리펩타이드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 폴리머 예컨대 폴리비닐비닐파롤리돈; 아미노산 (예를 들면, 0.1 mM 내지 100 mM, 0.1 mM 내지 1 mM, 0.01 mM 내지 50 mM, 1 mM 내지 50 mM, 1 mM 내지 30 mM, 1 mM 내지 20 mM, 10 mM 내지 25 mM의 농도에서) 예컨대 글리신, 글루타민, 메티오닌, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 라이신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코오스, 만노오스, 또는 덱스트란을 포함하는 다른 탄수화물; 칼레이트제 (예를 들면, 0.001 mg/mL 내지 1 mg/mL, 0.001 mg/mL 내지 1 mg/mL, 0.001 mg/mL 내지 0.1 mg/mL, 0.001 mg/mL 내지 0.01 mg/mL, 0.01 mg/mL 내지 0.1 mg/mL의 농도에서) 예컨대 EDTA (예를 들면, 디나트륨 EDTA 디히드레이트); 당류 (예를 들면, 1 mg/mL 내지 500 mg/mL, 10 mg/mL 내지 200 mg/mL, 10 mg/mL 내지 100 mg/mL, 50 mg/mL 내지 150 mg/mL의 농도에서) 예컨대 수크로오스, 만니톨, 트레할로오스 또는 소르비톨; 염 형성 반대 이온 예컨대 나트륨; 금속 캐물 (예를 들면 Zn-단백질 복합체); 및/또는 비-이온성 계면활성제 (예를 들면, 0.01 mg/mL 내지 10 mg/mL, 0.01 mg/mL 내지 1 mg/mL, 0.1 mg/mL 내지 1 mg/mL, 0.01 mg/mL 내지 0.5 mg/mL의 농도

에서) 예컨대 TWEEN<sup>TM</sup> (예를 들면, 폴리소르베이트 (예를 들면, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 80)), PLURONICS<sup>TM</sup> 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG).

[0168] 항체 제형은 임의의 다양한 물리적 특성에 관하여 특성화될 수 있다. 예를 들면, 액체 항체 제형은 치료적 효능, 안전성 및 보관을 위해 임의의 적합한 pH를 가질 수 있다. 예를 들면, 액체 항체 제형의 pH는 pH 4 내지 약 pH 9, pH 5 내지 pH 8, pH 5 내지 pH 7 또는 pH 6 내지 pH 8일 수 있다. 일부 구현예에서, 액체 항체 제형은 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5 또는 10 또는 더 높거나 낮은 pH를 가질 수 있다.

[0169] 또 다른 예에서, 액체 항체 제형은 치료적 효능, 안전성 및 보관을 위해 임의의 적합한 점도를 가질 수 있다. 예를 들면, 액체 항체 제형의 점도는 25°C에서 0.5 센티포아즈 (cP) 내지 100 cP, 1 cP 내지 50 cP, 1 cP 내지 20 cP, 1 cP 내지 15 cP 또는 5 cP 내지 15 cP일 수 있다. 일부 구현예에서, 액체 항체 제형은 25°C에서 0.5 cP, 1 cP, 1.2 cP, 1.4 cP, 1.6 cP, 1.8 cP, 2.0 cP, 2.2 cP, 2.4 cP, 2.6 cP, 2.8 cP, 3.0 cP, 3.2 cP, 3.4 cP, 3.6 cP, 3.8 cP, 4.0 cP, 4.2 cP, 4.4 cP, 4.6 cP, 4.8 cP, 5.0 cP, 5.2 cP, 5.4 cP, 5.6 cP, 5.8 cP, 6.0 cP, 6.2 cP, 6.4 cP, 6.6 cP, 6.8 cP, 7.0 cP, 7.2 cP, 7.4 cP, 7.6 cP, 7.8 cP, 8.0 cP, 8.2 cP, 8.4 cP, 8.6 cP, 8.8 cP, 9.0 cP, 9.2 cP, 9.4 cP, 9.6 cP, 9.8 cP, 10.0 cP, 10.2 cP, 10.4 cP, 10.6 cP, 10.8 cP, 11.0 cP, 11.2 cP, 11.4 cP, 11.6 cP, 11.8 cP, 12.0 cP, 12.2 cP, 12.4 cP, 12.6 cP, 12.8 cP, 13.0 cP, 13.2 cP, 13.4 cP, 13.6 cP, 13.8 cP, 14.0 cP, 14.2 cP, 14.4 cP, 14.6 cP, 14.8 cP, 또는 15.0 cP의 점도를 가질 수 있거나 또는 점도는 더 높거나 낮을 수 있다.

[0170] 또 다른 예에서, 액체 항체 제형은 치료적 효능, 안전성 및 보관을 위해 임의의 적합한 전도도를 가질 수 있다. 예를 들면, 액체 항체 제형의 전도도는 0.1 밀리지멘스/센티미터 (mS/cm) 내지 15 mS/cm, 0.1 mS/cm 내지 10 mS/cm, 0.1 mS/cm 내지 5 mS/cm, 0.1 mS/cm 내지 2 mS/cm 또는 0.1 mS/cm 내지 1.5 mS/cm일 수 있다. 일부 구현예에서, 액체 항체 제형은 0.19 mS/cm, 0.59 mS/cm, 1.09 mS/cm, 1.19 mS/cm, 1.29 mS/cm, 1.39 mS/cm, 1.49 mS/cm, 1.59 mS/cm, 1.69 mS/cm, 1.79 mS/cm, 1.89 mS/cm, 1.99 mS/cm, 2.09 mS/cm, 2.19 mS/cm, 2.29 mS/cm, 2.39 mS/cm, 2.49 mS/cm, 2.59 mS/cm, 2.69 mS/cm, 2.79 mS/cm, 2.89 mS/cm, 2.99 mS/cm, 3.09 mS/cm, 3.19 mS/cm, 3.29 mS/cm, 3.39 mS/cm, 3.49 mS/cm, 3.59 mS/cm, 3.69 mS/cm, 3.79 mS/cm, 3.89 mS/cm, 3.99 mS/cm, 4.09 mS/cm, 4.19 mS/cm, 4.29 mS/cm, 4.39 mS/cm, 4.49 mS/cm, 4.59 mS/cm, 4.69 mS/cm, 4.79 mS/cm, 4.89 mS/cm, 4.99 mS/cm, 5.09 mS/cm, 6.09 mS/cm, 6.59 mS/cm, 7.09 mS/cm, 7.59 mS/cm, 8.09 mS/cm, 8.59 mS/cm, 9.09 mS/cm, 9.59 mS/cm, 10.09 mS/cm, 10.59 mS/cm, 11.09 mS/cm, 11.59 mS/cm, 12.09 mS/cm, 12.59 mS/cm, 13.09 mS/cm, 13.59 mS/cm, 14.09 mS/cm, 14.59 mS/cm 또는 15.09 mS/cm의 전도도를 가질 수 있거나 또는 전도도는 더 높거나 낮을 수 있다.

[0171] 또 다른 예에서, 액체 항체 제형은 치료적 효능, 안전성 및 보관을 위해 임의의 적합한 오스몰농도를 가질 수 있다. 예를 들면, 액체 항체 제형의 오스몰농도는 50 밀리오스몰/킬로그램 (mOsm/kg) 내지 5000 mOsm/kg, 50 mOsm/kg 내지 2000 mOsm/kg, 50 mOsm/kg 내지 1000 mOsm/kg, 50 mOsm/kg 내지 750 mOsm/kg 또는 50 mOsm/kg 내지 500 mOsm/kg일 수 있다. 일부 구현예에서, 액체 항체 제형은 50 mOsm/kg, 60 mOsm/kg, 70 mOsm/kg, 80 mOsm/kg, 90 mOsm/kg, 100 mOsm/kg, 120 mOsm/kg, 140 mOsm/kg, 160 mOsm/kg, 180 mOsm/kg, 200 mOsm/kg, 220 mOsm/kg, 240 mOsm/kg, 260 mOsm/kg, 280 mOsm/kg, 300 mOsm/kg, 320 mOsm/kg, 340 mOsm/kg, 360 mOsm/kg, 380 mOsm/kg, 400 mOsm/kg, 420 mOsm/kg, 440 mOsm/kg, 460 mOsm/kg, 480 mOsm/kg, 500 mOsm/kg, 520 mOsm/kg, 540 mOsm/kg, 560 mOsm/kg, 580 mOsm/kg, 600 mOsm/kg, 620 mOsm/kg, 640 mOsm/kg, 660 mOsm/kg, 680 mOsm/kg, 700 mOsm/kg, 720 mOsm/kg, 740 mOsm/kg, 760 mOsm/kg, 780 mOsm/kg, 800 mOsm/kg, 820 mOsm/kg, 840 mOsm/kg, 860 mOsm/kg, 880 mOsm/kg, 900 mOsm/kg, 920 mOsm/kg, 940 mOsm/kg, 960 mOsm/kg, 980 mOsm/kg, 1000 mOsm/kg, 1050 mOsm/kg, 1100 mOsm/kg, 1150 mOsm/kg, 1200 mOsm/kg, 1250 mOsm/kg, 1300 mOsm/kg, 1350 mOsm/kg, 1400 mOsm/kg, 1450 mOsm/kg, 1500 mOsm/kg의 오스몰농도를 가질 수 있거나 또는 오스몰농도는 더 높거나 낮을 수 있다.

[0172] 항체를 함유하는 리포좀은 당해분야에서 공지된, 예컨대 Epstein, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688 (1985); Hwang, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030 (1980); 및 미국 특허 번호 4,485,045 및 4,544,545에 기재된 방법에 의해 제조될 수 있다. 증대된 순환 시간을 갖는 리포좀은 미국 특허 번호 5,013,556에서 개시되어 있다. 특히 유용한 리포좀은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도된 포스파티딜에탄올아민 (PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물을 이용한 역상 증발 방법에 의해 발생될 수 있다. 리포좀은 정의된 기공 크기의 필터를 통해 압출되어 원하는 직경을 갖는 리포좀을 생산한다.

- [0173] 콜로이드 약물 전달 시스템 (예를 들면, 리포좀, 알부민 마이크로구형체, 마이크로에멀젼, 나노-입자 및 나노캡슐)에서 또는 메크로에멀젼에서 활성 성분, 예를 들면, 하이드록시메틸셀룰로오스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타실레이트) 마이크로캡슐, 각각은, 예를 들면, 코아세르베이션 기술에 의해 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐에 또한 포함될 수 있다. 상기 기술은 하기에서 개시되어 있다: Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. Mack Publishing (2000).
- [0174] 지속-방출 제제는 제조될 수 있다. 지속-방출 제제의 적합한 예는, 매트릭스가 형상화된 물품, 예를 들면 필름, 또는 마이크로캡슐의 형태인, 항체를 함유하는 고체 소수성 폴리머의 반투과성 매트릭스를 포함한다. 지속-방출 매트릭스의 예는 하기를 포함한다: 폴리에스테르, 하이드로겔 (예를 들면, 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 '폴리(비닐(vnyl)알코올)'), 폴리락타이드 (미국 특허 번호 3,773,919), L-글루탐산과 7-에틸-L-글루타메이트와의 코폴리머, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글라이콜산 코폴리머 예컨대 LUPRON DEPOT<sup>TM</sup> (락트산-글라이콜산 코폴리머 및 류프롤라이드 아세테이트로 구성된 주사가능 마이크로구형체), 수크로오스 아세테이트 이소부티레이트, 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산.
- [0175] 생체내 투여를 위해 사용되는 제형은 일반적으로 멸균되어야 한다. 이것은, 예를 들면, 멸균된 여과 막을 통한 여과에 의해 쉽게 달성된다. 치료적 항체 조성물은 일반적으로 멸균된 접근 포트를 갖는 용기, 예를 들면, 피하주사 바늘에 의해 뚫을 수 있는 스토퍼를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알 속에 배치된다.
- [0176] 본 발명에 따른 조성물은 경구, 비경구 또는 직장 투여, 또는 흡입에 의한 투여 또는 취입을 위해 단위 복용량 형태 예컨대 정제, 알약, 캡슐, 분말, 과립, 용액 또는 혼탁제, 또는 좌약일 수 있다. 일부 경우에서, 단위 복용량 형태는 대상체에 단위 복용량 투여에 유용한 미리충전된 소켓 (예를 들면, 미리충전된 주사기)에 공급될 수 있다.
- [0177] 고형 조성물 예컨대 정제 제조를 위해, 주요한 활성 성분은 약제학적 담체, 예를 들면 종래의 정제화 성분 예컨대 옥수수 전분, 락토오스, 수크로오스, 소르비톨, 탈크, 스테아르산, 마그네슘 스테아레이트, 디인산칼슘 또는 검, 및 다른 약제학적 희석제, 예를 들면 물과 혼합되어, 본 발명의 화합물의 균질 혼합물을 함유하는 고체 전제형 조성물, 또는 비독성 그 약제학적으로 허용가능한 염을 형성할 수 있다. 균질로서 이들 전제형 조성물에 대해 지칭하는 경우, 활성 성분이 조성물 전반에 걸쳐 고르게 분산되어 이로써 조성물이 동등하게 효과적인 단위 복용량 형태 예컨대 정제, 알약 및 캡슐로 쉽게 세분될 수 있음을 의미한다. 그 다음 이러한 고체 전제형 조성물은 본 발명의 활성 성분 0.1 내지 약 500 mg을 함유하는 상기 기재된 유형의 단위 복용량 형태로 세분된다. 신규 조성물의 정제 또는 알약은 코팅 또는 달리 혼합되어 지속 작용의 이점을 제공하는 복용량 형태를 제공할 수 있다. 예를 들면, 정제 또는 알약은 내부 복용량 및 외부 복용량 성분을 포함할 수 있고, 후자는 전자 위에 외피의 형태이다. 2개의 성분은 위에서 봉해를 저항하는 작용을 하고 그리고 내부 성분이 십이지장에 온전히 통과하거나 또는 방출을 지연시키는 장용 층에 의해 분리될 수 있다. 다양한 물질은 상기 장용 층 또는 코팅물을 위해 사용될 수 있고, 상기 물질은 다수의 폴리머성 산 그리고 폴리머성 산과 셀락, 세틸 알코올 및 셀룰로오스 아세테이트와 같은 상기 물질과의 혼합물을 포함한다.
- [0178] 적합한 표면-활성제는, 특히, 비-이온성 제제, 예컨대 폴리옥시에틸렌소르비탄 (예를 들면 Tween<sup>TM</sup> 20, 40, 60, 80 또는 85) 및 다른 소르비탄 (예를 들면 Span<sup>TM</sup> 20, 40, 60, 80 또는 85)을 포함한다. 표면-활성제를 갖는 조성물은 편리하게 0.05 내지 5% 사이의 표면-활성제를 포함할 것이고, 그리고 0.1 내지 2.5% 사이일 수 있다. 다른 성분, 예를 들면 만니톨 또는 다른 약제학적으로 허용가능한 비히클리, 필요하면 부가될 수 있음이 인정될 것이다.
- [0179] 적합한 에멀젼은 상업적으로 이용가능한 지방 에멀젼, 예컨대 Intralipid<sup>TM</sup>, Liposyn<sup>TM</sup>, Infonutrol<sup>TM</sup>, Lipofundin<sup>TM</sup> 및 Lipiphysan<sup>TM</sup>을 이용하여 제조될 수 있다. 활성 성분은 미리-혼합된 에멀젼 조성물에서 용해될 수 있거나 또는 대안적으로 오일 (예를 들면 대두 오일, 잇꽃 오일, 목화씨 오일, 참깨 오일, 옥수수 오일 또는 아몬드 오일)에서 그리고 인지질 (예를 들면 난자 인지질, 대두 인지질 또는 대두 레시틴) 및 물과 혼합시 형성된 에멀젼에서 용해될 수 있다. 다른 성분, 예를 들면 글리세롤 또는 글루코오스가 부가되어 에멀젼의 진장성을 조정할 수 있음이 인정될 것이다. 적합한 에멀젼은 전형적으로 최대 20% 오일, 예를 들면, 5 내지 20% 사이를 함유할 것이다. 지방 에멀젼은 0.1 내지 1.0 1m, 특히 0.1 내지 0.5 1m의 지방 액적을 포함할 수 있고, 그리고 5.5 내지 8.0 범위의 pH를 갖는다.
- [0180] 에멀젼 조성물은 항체를 Intralipid<sup>TM</sup> 또는 그 성분 (대두 오일, 난자 인지질, 글리세롤 및 물)과 혼합시킴으로

써 제조된 것일 수 있다.

[0181] 흡입 또는 취입용 조성물은 약제학적으로 허용가능한, 수성 또는 유기 용매, 또는 이들의 혼합물에서 용액 및 혼탁제, 그리고 분말을 포함한다. 액체 또는 고체 조성물은 상기 제시된 바와 같이 적합한 약제학적으로 허용가능한 부형제를 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 조성물은 국소 또는 전신 효과를 위해 경구 또는 코 호흡기 경로로 투여된다. 바람직하게는 멸균된 약제학적으로 허용가능한 용매에서 조성물은 가스의 사용에 의해 분무될 수 있다. 분무된 용액은 분무 디바이스로부터 직접적으로 호흡될 수 있거나 또는 분무 디바이스는 안면 마스크, 텐트 또는 간헐적 양압 호흡기에 부착될 수 있다. 용액, 혼탁제 또는 분말 조성물은 적절한 방식으로 제형을 전달하는 디바이스로부터 바람직하게는 경구로 또는 비강으로 투여될 수 있다.

[0182] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항제 항체, 단클론성 항-CGRP 길항제 항체)를 포함하는 제형은 0.1 mg 내지 3000 mg, 1 mg 내지 1000 mg, 100 내지 1000 mg, 또는 100 내지 500 mg 범위의 항체 양으로 임의의 적합한 투여 경로로 제조될 수 있다. 일부 경우에서, 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항제 항체, 단클론성 항-CGRP 길항제 항체)를 포함하는 제형은 최대, 또는 최소 0.1 mg, 1 mg, 100 mg, 1 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 450 mg, 475 mg, 500 mg, 525 mg, 550 mg, 575 mg, 600 mg, 625 mg, 650 mg, 675 mg, 700 mg, 725 mg, 750 mg, 775 mg, 800 mg, 825 mg, 850 mg, 875 mg, 900 mg, 925 mg, 950 mg, 975 mg, 1000 mg, 1100 mg, 1200 mg, 1300 mg, 1400 mg, 1500 mg, 1600 mg, 1700 mg, 1800 mg, 1900 mg, 2000 mg, 또는 3000 mg의 항체 양을 포함할 수 있다.

[0183] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항제 항체, 단클론성 항-CGRP 길항제 항체)를 포함하는 액체 제형은 0.1 내지 500 mg/mL, 0.1 내지 375 mg/mL, 0.1 내지 250 mg/mL, 0.1 내지 175 mg/mL, 0.1 내지 100 mg/mL, 1 mg/mL 내지 500 mg/mL, 1 mg/mL 내지 375 mg/mL, 1 mg/mL 내지 300 mg/mL, 1 mg/mL 내지 250 mg/mL, 1 mg/mL 내지 200 mg/mL, 1 mg/mL 내지 150 mg/mL, 1 mg/mL 내지 100 mg/mL, 10 mg/mL 내지 500 mg/mL, 10 mg/mL 내지 375 mg/mL, 10 mg/mL 내지 250 mg/mL, 10 mg/mL 내지 150 mg/mL, 10 mg/mL 내지 100 mg/mL, 100 mg/mL 내지 500 mg/mL, 100 mg/mL 내지 450 mg/mL, 100 mg/mL 내지 400 mg/mL, 100 mg/mL 내지 350 mg/mL, 100 mg/mL 내지 300 mg/mL, 100 mg/mL 내지 250 mg/mL, 100 mg/mL 내지 200 mg/mL 또는 100 mg/mL 내지 150 mg/mL 범위의 항체 농도로 임의의 적합한 투여 경로를 위해 제조될 수 있다. 일부 구현예에서, 액체 제형은 최대, 최소, 또는 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 15 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 또는 500 mg/mL 미만의 농도로 본원에 기재된 항체를 포함할 수 있다.

[0184] 항체 제형은 항체 및 본원에서 다른 곳에 기재된 다른 종을 포함하는 하나 이상의 성분을 포함할 수 있다. 항체 및 다른 성분은 항체의 치료적 효능, 안전성 및 보관을 위해 임의의 적합한 양 및/또는 임의의 적합한 농도일 수 있다. 일 예에서, 항체 제형은 51.4 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 20 mM 히스티딘, 0.1 mg/mL 메티오닌, 84 mg/mL 트레할로오스 디히드레이트, 0.05 mg/mL 디나트륨 EDTA 디히드레이트, 및 0.2 mg/mL 폴리소르베이트 80을 포함하는 용액일 수 있다.

[0185] 또 다른 예에서, 항체 제형은 200 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 15 mM 아르기닌, 78 mg/mL 수크로오스, 0.3 mg/mL EDTA, 및 0.1 mg/mL 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[0186] 또 다른 예에서, 항체 제형은 175 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 20 mM 글리신, 88 mg/mL 트레할로오스 디히드레이트, 0.015 mg/mL EDTA 및 0.25 mg/mL 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[0187] 또 다른 예에서, 항체 제형은 225 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 23 mM 아스파라긴, 84 mg/mL 소르비톨, 0.1 mg/mL EDTA 및 0.15 mg/mL 폴리소르베이트 60을 포함할 수 있다.

[0188] 또 다른 예에서, 항체 제형은 150 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 17 mM 아스파라긴, 74 mg/mL 만니톨, 0.025 mg/mL EDTA 및 0.2 mg/mL 폴리소르베이트

트 80을 포함할 수 있다.

[0189] 또 다른 예에서, 항체 제형은 100 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 16 mM 아르기닌, 87 mg/mL 만니톨, 0.025 mg/mL EDTA 및 0.15 mg/mL 폴리소르베이트 20을 포함할 수 있다.

[0190] 또 다른 예에서, 항체 제형은 250 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 25 mM 히스티딘, 74 mg/mL 만니톨, 0.025 mg/mL EDTA 및 0.25 mg/mL 폴리소르베이트 20을 포함할 수 있다.

[0191] 또 다른 예에서, 항체 제형은 50 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 19 mM 아르기닌, 84 mg/mL 수크로오스, 0.05 mg/mL EDTA 및 0.3 mg/mL 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[0192] 또 다른 예에서, 항체 제형은 125 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 22 mM 글리신, 79 mg/mL 트레할로오스 디히드레이트, 0.15 mg/mL EDTA 및 0.15 mg/mL 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[0193] 또 다른 예에서, 항체 제형은 175 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 20 mM 히스티딘, 0.1 mg/mL 메티오닌, 84 mg/mL 트레할로오스 디히드레이트, 0.05 mg/mL 디나트륨 EDTA 디히드레이트, 및 0.2 mg/mL 폴리소르베이트 80을 포함하는 용액일 수 있다.

[0194] 또 다른 예에서, 항체 제형은 200 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 30 mM 아르기닌, 78 mg/mL 수크로오스, 0.3 mg/mL EDTA, 및 0.1 mg/mL 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[0195] 또 다른 예에서, 항체 제형은 175 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 20 mM 글리신, 88 mg/mL 트레할로오스 디히드레이트, 0.015 mg/mL EDTA 및 0.15 mg/mL 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[0196] 또 다른 예에서, 항체 제형은 150 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 20 mM 히스티딘, 84 mg/mL 수크로오스, 0.05 mg/mL EDTA 및 0.2 mg/mL 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[0197] 또 다른 예에서, 항체 제형은 225 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 23 mM 히스티딘, 84 mg/mL 소르비톨, 0.1 mg/mL EDTA 및 0.15 mg/mL 폴리소르베이트 60을 포함할 수 있다.

[0198] 또 다른 예에서, 항체 제형은 150 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 17 mM 아스파라긴, 74 mg/mL 만니톨, 0.3 mg/mL EDTA 및 0.2 mg/mL 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[0199] 또 다른 예에서, 항체 제형은 100 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 16 mM 아르기닌, 87 mg/mL 만니톨, 0.025 mg/mL EDTA 및 0.25 mg/mL 폴리소르베이트 20을 포함할 수 있다.

[0200] 또 다른 예에서, 항체 제형은 250 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 25 mM 히스티딘, 89 mg/mL 만니톨, 0.025 mg/mL EDTA 및 0.25 mg/mL 폴리소르베이트 20을 포함할 수 있다.

[0201] 또 다른 예에서, 항체 제형은 125 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 29 mM 아르기닌, 84 mg/mL 수크로오스, 0.05 mg/mL EDTA 및 0.3 mg/mL 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[0202] 또 다른 예에서, 항체 제형은 150 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체), 25 mM 아스파라긴, 84 mg/mL 만니톨, 0.05 mg/mL EDTA 및 0.2 mg/mL 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[0203] 또 다른 예에서, 항체 제형은 145 mg/mL 항체 (예를 들면, 항체 G1, 또 다른 항-CGRP 길항제 항체, CGRP 경로를

조정하는 단클론성 항체), 22 mM 히스티딘, 72 mg/mL 트레할로오스 디히드레이트, 0.05 mg/mL EDTA 및 0.1 mg/mL 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[0204]

본원에 기재된 항체는, 주사로 (예를 들면, 복강내로, 정맥내로, 피하로, 근육내로 등)를 포함하는, 임의의 적합한 방법을 이용하여 투여될 수 있다. 항체는 또한 본원에 기재된 바와 같이 흡입을 통해 투여될 수 있다. 일부 경우에서, 항체는 흡입 있거나 없이 비강으로 투여될 수 있다. 일반적으로, 본원에 기재된 항체의 투여를 위해, 초기 후보 복용량은 약 2 mg/kg일 수 있다. 본 발명의 목적을 위해, 전형적인 1일 복용량은 상기 지칭된 인자에 의존하여 약 임의의 3  $\mu$ g/kg 내지 30  $\mu$ g/kg 내지 300  $\mu$ g/kg 내지 3 mg/kg, 내지 30 mg/kg 내지 100 mg/kg 이상의 범위일 수 있다. 예를 들면, 약 1 mg/kg, 약 2.5 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 및 약 25 mg/kg의 복용량이 사용될 수 있다. 몇일 이상에 걸친 반복된 투여를 위해, 질병에 따라, 증상의 원하는 억제가 발생할 때까지 또는 충분한 치료 수준이, 예를 들면, 통증을 감소시키기 위해 달성될 때까지 치료는 지속된다. 예시적인 복용 처방은 초기 용량 약 8.5 mg/kg, 그 다음 매주 유지 용량 약 2.8 mg/kg의 항체, 또는 그 다음 유지 용량 약 2.8 mg/kg 격주 투여를 포함한다. 또 다른 예시적인 복용 처방은 100 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 550 mg, 600 mg, 675 mg, 또는 900 mg의 용량을 대상체에 매달 1회 피하로 투여하는 것을 포함한다. 또 다른 예시적인 복용 처방은 초기 용량 675 mg 피하로, 그 다음 매달 용량 225 mg의 항체 피하로 투여하는 것을 포함한다. 그러나, 다른 복용량 요법은 의사가 달성을 원하는 약력학적 쇠퇴의 패턴에 따라 유용할 수 있다. 예를 들면, 일부 구현예에서, 매주 1-4회 복용이 고려된다. 상기 요법의 진행은 종래의 기술 및 검정으로 쉽게 모니터링된다. (사용된 CGRP 길항체(들) 포함) 복용 처방은 경시적으로 다양할 수 있다.

[0205]

일부 구현예에서, 본원에 기재된 그리고 대상체에 투여된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)의 용량 또는 양은 0.1  $\mu$ g 내지 3000 mg, 1 mg 내지 1000 mg, 100 내지 1000 mg, 100 내지 500 mg, 0.1 mg 내지 5000 mg, 1 mg 내지 4000 mg, 250 mg 내지 1000 mg, 500 mg 내지 1000 mg, 100 mg 내지 900 mg, 400 mg 내지 900 mg, 10 mg 내지 3000 mg, 10 mg 내지 2000 mg, 100 mg 내지 2000 mg, 150 mg 내지 2000 mg, 200 mg 내지 2000 mg, 250 mg 내지 2000 mg, 300 mg 내지 2000 mg, 350 mg 내지 2000 mg, 400 mg 내지 2000 mg, 450 mg 내지 2000 mg, 500 mg 내지 2000 mg, 550 mg 내지 2000 mg, 600 mg 내지 2000 mg, 650 mg 내지 2000 mg, 700 mg 내지 2000 mg, 750 mg 내지 2000 mg, 800 mg 내지 2000 mg, 850 mg 내지 2000 mg, 900 mg 내지 2000 mg, 950 mg 내지 2000 mg, 또는 1000 mg 내지 2000 mg 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 그리고 대상체에 투여된 항체의 용량 또는 양은 최대 하기, 하기 미만, 또는 최소 하기일 수 있다: 0.1  $\mu$ g, 1  $\mu$ g, 100  $\mu$ g, 1 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 450 mg, 475 mg, 500 mg, 525 mg, 550 mg, 575 mg, 600 mg, 625 mg, 650 mg, 675 mg, 700 mg, 725 mg, 750 mg, 775 mg, 800 mg, 825 mg, 850 mg, 875 mg, 900 mg, 925 mg, 950 mg, 975 mg, 1000 mg, 1100 mg, 1200 mg, 1300 mg, 1400 mg, 1500 mg, 1600 mg, 1700 mg, 1800 mg, 1900 mg, 2000 mg, 또는 3000 mg. 일부 구현예에서, 양은 100 내지 2000 mg 사이이다.

[0206]

일부 구현예에서, 본원에 기재된 그리고 대상체에 투여된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)의 용량 또는 양은 0.1 내지 500, 0.1 내지 100, 0.1 내지 50, 0.1 내지 20, 0.1 내지 10, 1 내지 10, 1 내지 7, 1 내지 5 또는 0.1 내지 3 mg/kg의 체중 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 그리고 대상체에 투여된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)의 용량 또는 양은 하기, 최대 하기, 하기 미만, 또는 최소 하기일 수 있다: 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0, 10.5, 11.0, 11.5, 12.0, 12.5, 13.0, 13.5, 14.0, 14.5, 15.0, 15.5, 16.0, 16.5, 17.0, 17.5, 18.0, 18.5, 19.0, 19.5, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 또는 500 mg/kg의 체중.

[0207]

일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)의 용량 또는 양이 대상체에 투여되는 빈도는 다양할 수 있다. 일부 구현예에서, 항체의 단회 용량은 요법에 걸쳐 대상체에 제공될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체의 용량 또는 양이 대상체에 투여되는 빈도는 일정하다 (예를 들면, 매달 1회 투여된다). 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체의 용량 또는 양이 대상체에 투여되는 빈도는 가변적이다 (예를 들면, 초기 용량 그 다음 1 개월 용량, 그 다음 3 개월 및 7

개월 추가의 용량). 일부 구현예에서, 항체가 대상체에 투여되는 빈도는 하기, 최소 하기, 하기 미만, 또는 최대 하기이다: 날마다 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6회. 일부 구현예에서, 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)가 대상체에 투여되는 빈도는 하기, 최소 하기, 하기 미만, 또는 최대 하기이다: 날마다 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 용량(들).

[0208] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)의 용량 또는 양이 대상체에 투여되는 빈도는 하기, 최소 하기, 하기 미만, 또는 최대 하기이다: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 180, 또는 200 일(들) 당 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20회(들).

[0209] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)의 용량 또는 양이 대상체에 투여되는 빈도는 하기, 최소 하기, 하기 미만, 또는 최대 하기이다: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 100 주(들) 당 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20회(들). 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)가 대상체에 투여되는 빈도는 하기 미만이다: 주마다 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15 용량(들).

[0210] 일부 구현예에서, 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)의 용량 또는 양이 대상체에 투여되는 빈도는 하기, 최소 하기, 하기 미만, 또는 최대 하기이다: 매월, 매 2 개월, 매 3 개월, 매 4 개월, 매 5 개월, 매 6 개월, 매 7 개월, 매 8 개월, 매 9 개월, 매 10 개월, 매 11 개월, 매 12 개월, 매 13 개월, 매 14 개월, 매 15 개월, 매 16 개월, 매 17 개월, 또는 매 18 개월(들) 마다 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20회(들). 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)가 대상체에 투여되는 빈도는 하기 미만이다: 달마다 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15 용량(들). 일부 구현예에서, 항체의 용량 또는 양은 대상체에 (예를 들면, 피하로 또는 정맥내로) 달마다 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회, 10회 이상 투여될 수 있다.

[0211] 일부 구현예에서, 50 mg, 100 mg 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 550 mg, 600 mg, 650 mg, 700 mg, 750 mg, 800 mg, 850 mg, 900 mg, 950 mg, 1000 mg, 1050 mg, 1100 mg, 1150 mg, 1200 mg, 1250 mg, 1300 mg, 1350 mg, 1400 mg, 1450 mg, 1500 mg, 1550 mg, 1600 mg, 1650 mg, 1700 mg, 1750 mg, 1800 mg, 1850 mg, 1900 mg, 1950 mg, 2000 mg, 2050 mg, 2100 mg, 2150 mg, 2200 mg, 2250 mg, 2300 mg, 2350 mg, 2400 mg, 2450 mg, 2500 mg, 2550 mg, 2600 mg, 2650 mg, 2700 mg, 2750 mg, 2800 mg, 2850 mg, 2900 mg, 2950 mg, 3000 mg, 이상의 용량 또는 양으로 항체가 대상체에 (예를 들면, 피하로 또는 정맥내로) 달마다 1회 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 0.1 mg 내지 5000 mg, 1 mg 내지 4000 mg, 10 mg 내지 3000 mg, 10 mg 내지 2000 mg, 100 mg 내지 2000 mg, 150 mg 내지 2000 mg, 200 mg 내지 2000 mg, 250 mg 내지 2000 mg, 300 mg 내지 2000 mg, 350 mg 내지 2000 mg, 400 mg 내지 2000 mg, 450 mg 내지 2000 mg, 500 mg 내지 2000 mg, 550 mg 내지 2000 mg, 600 mg 내지 2000 mg, 650 mg 내지 2000 mg, 700 mg 내지 2000 mg, 750 mg 내지 2000 mg, 800 mg 내지 2000 mg, 850 mg 내지 2000 mg, 900 mg 내지 2000 mg, 950 mg 내지 2000 mg, 또는 1000 mg 내지 2000 mg의 용량 또는 양으로 항체가 대상체에 (예를 들면, 피하로 또는 정맥내로) 달마다 1회 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 100 - 2000 mg의 항체가 달마다 1회 투여된다.

[0212] 일부 구현예에서, 50 mg, 100 mg 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 550 mg, 600 mg, 650 mg, 700 mg, 750 mg, 800 mg, 850 mg, 900 mg, 950 mg, 1000 mg, 1050 mg, 1100 mg, 1150 mg, 1200 mg, 1250 mg, 1300 mg, 1350 mg, 1400 mg, 1450 mg, 1500 mg, 1550 mg, 1600 mg, 1650 mg, 1700 mg, 1750 mg, 1800 mg, 1850 mg, 1900 mg, 1950 mg, 2000 mg, 2050 mg, 2100 mg, 2150 mg, 2200 mg, 2250 mg, 2300 mg, 2350 mg, 2400 mg, 2450 mg, 2500 mg, 2550 mg, 2600 mg, 2650 mg, 2700 mg, 2750 mg, 2800 mg, 2850 mg, 2900 mg, 2950 mg, 3000 mg, 이상의 용량 또는 양으로 항체가 대상체에 (예를 들면, 피하로 또는 정맥내로) 매 3 개월 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 0.1 mg 내지 5000 mg, 1 mg 내지 4000 mg, 10 mg 내지 3000 mg, 10 mg 내지 2000 mg, 100 mg 내지 2000 mg, 150 mg 내지 2000 mg, 200 mg 내지 2000 mg, 250 mg 내지 2000 mg, 300 mg 내지 2000 mg, 350 mg 내지 2000 mg, 400 mg 내지 2000 mg, 450 mg 내지 2000 mg, 500 mg

내지 2000 mg, 550 mg 내지 2000 mg, 600 mg 내지 2000 mg, 650 mg 내지 2000 mg, 700 mg 내지 2000 mg, 750 mg 내지 2000 mg, 800 mg 내지 2000 mg, 850 mg 내지 2000 mg, 900 mg 내지 2000 mg, 950 mg 내지 2000 mg, 또는 1000 mg 내지 2000 mg의 용량 또는 양으로 항체가 대상체에 (예를 들면, 피하로 또는 정맥내로) 매 3 개월 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 450 mg 내지 2000 mg이 매 3 개월 이하 1회 투여된다.

[0213] 일부 구현예에서, 50 mg, 100 mg 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 550 mg, 600 mg, 650 mg, 700 mg, 750 mg, 800 mg, 850 mg, 900 mg, 950 mg, 1000 mg, 1050 mg, 1100 mg, 1150 mg, 1200 mg, 1250 mg, 1300 mg, 1350 mg, 1400 mg, 1450 mg, 1500 mg, 1550 mg, 1600 mg, 1650 mg, 1700 mg, 1750 mg, 1800 mg, 1850 mg, 1900 mg, 1950 mg, 2000 mg, 2050 mg, 2100 mg, 2150 mg, 2200 mg, 2250 mg, 2300 mg, 2350 mg, 2400 mg, 2450 mg, 2500 mg, 2550 mg, 2600 mg, 2650 mg, 2700 mg, 2750 mg, 2800 mg, 2850 mg, 2900 mg, 2950 mg, 3000 mg, 이상의 용량 또는 양으로 항체가 대상체에 (예를 들면, 피하로 또는 정맥내로) 매 6 개월 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 0.1 mg 내지 5000 mg, 1 mg 내지 4000 mg, 10 mg 내지 3000 mg, 10 mg 내지 2000 mg, 100 mg 내지 2000 mg, 150 mg 내지 2000 mg, 200 mg 내지 2000 mg, 250 mg 내지 2000 mg, 300 mg 내지 2000 mg, 350 mg 내지 2000 mg, 400 mg 내지 2000 mg, 450 mg 내지 2000 mg, 500 mg 내지 2000 mg, 550 mg 내지 2000 mg, 600 mg 내지 2000 mg, 650 mg 내지 2000 mg, 700 mg 내지 2000 mg, 750 mg 내지 2000 mg, 800 mg 내지 2000 mg, 850 mg 내지 2000 mg, 900 mg 내지 2000 mg, 950 mg 내지 2000 mg, 또는 1000 mg 내지 2000 mg의 용량 또는 양으로 항체가 대상체에 (예를 들면, 피하로 또는 정맥내로) 매 6 개월 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 450 mg 내지 2000 mg이 매 6 개월 이하 1회 투여된다.

[0214] 일부 구현예에서, 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항제 항체, 단클론성 항-CGRP 길항제 항체)의 용량 또는 양이 대상체에 (예를 들면, 피하로 또는 정맥내로) 투여되는 빈도는 하기, 최소 하기, 하기 미만, 또는 최대 하기이다: 매 쿼터마다 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20회(들). 인정될 수 있는 바와 같이, "쿼터"는 쿼터 년의 시간 기간을 지칭할 수 있고, 또한 캘린더 쿼터 예컨대 1월 1일 - 3월 31일, 4월 1일 - 6월 30, 7월 1일 - 9월 30일 또는 10월 1일 - 12월 31일의 시간 기간을 지칭할 수 있다. 일부 경우에서, "쿼터"는 대략 3 개월의 시간 기간을 지칭할 수 있다.

[0215] 일부 구현예에서, 50 mg, 100 mg 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 550 mg, 600 mg, 650 mg, 700 mg, 750 mg, 800 mg, 850 mg, 900 mg, 950 mg, 1000 mg, 1050 mg, 1100 mg, 1150 mg, 1200 mg, 1250 mg, 1300 mg, 1350 mg, 1400 mg, 1450 mg, 1500 mg, 1550 mg, 1600 mg, 1650 mg, 1700 mg, 1750 mg, 1800 mg, 1850 mg, 1900 mg, 1950 mg, 2000 mg, 2050 mg, 2100 mg, 2150 mg, 2200 mg, 2250 mg, 2300 mg, 2350 mg, 2400 mg, 2450 mg, 2500 mg, 2550 mg, 2600 mg, 2650 mg, 2700 mg, 2750 mg, 2800 mg, 2850 mg, 2900 mg, 2950 mg, 3000 mg, 이상의 용량 또는 양으로 항체가 대상체에 (예를 들면, 피하로 또는 정맥내로) 매 쿼터 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 0.1 mg 내지 5000 mg, 1 mg 내지 4000 mg, 10 mg 내지 3000 mg, 10 mg 내지 2000 mg, 100 mg 내지 2000 mg, 150 mg 내지 2000 mg, 200 mg 내지 2000 mg, 250 mg 내지 2000 mg, 300 mg 내지 2000 mg, 350 mg 내지 2000 mg, 400 mg 내지 2000 mg, 450 mg 내지 2000 mg, 500 mg 내지 2000 mg, 550 mg 내지 2000 mg, 600 mg 내지 2000 mg, 650 mg 내지 2000 mg, 700 mg 내지 2000 mg, 750 mg 내지 2000 mg, 800 mg 내지 2000 mg, 850 mg 내지 2000 mg, 900 mg 내지 2000 mg, 950 mg 내지 2000 mg, 또는 1000 mg 내지 2000 mg의 용량 또는 양으로 항체가 대상체에 (예를 들면, 피하로 또는 정맥내로) 매 쿼터 투여될 수 있다.

[0216] 일부 구현예에서, 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항제 항체, 단클론성 항-CGRP 길항제 항체)의 용량 또는 양이 투여되는 빈도는 하기, 최소 하기, 하기 미만, 또는 최대 하기이다: 매년, 매 2 년, 매 3 년, 매 4 년, 또는 매 5 년마다 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20회(들). 일부 구현예에서, 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항제 항체, 단클론성 항-CGRP 길항제 항체)의 용량 또는 양이 대상체에 투여되는 빈도는 하기 미만이다: 해마다 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25 용량(들).

[0217] 일부 구현예에서, 50 mg, 100 mg 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 550 mg, 600 mg, 650 mg, 700 mg, 750 mg, 800 mg, 850 mg, 900 mg, 950 mg, 1000 mg, 1050 mg, 1100 mg, 1150 mg, 1200 mg, 1250 mg, 1300 mg, 1350 mg, 1400 mg, 1450 mg, 1500 mg, 1550 mg, 1600 mg, 1650 mg, 1700 mg, 1750 mg, 1800 mg, 1850 mg, 1900 mg, 1950 mg, 2000 mg, 2050 mg, 2100 mg, 2150 mg, 2200 mg, 2250 mg, 2300 mg, 2350 mg, 2400 mg, 2450 mg, 2500 mg, 2550 mg, 2600 mg, 2650 mg, 2700 mg, 2750 mg, 2800 mg, 2850 mg, 2900 mg, 2950 mg, 3000 mg, 이상의 용량 또는 양으로 항체가 대상체에 해마다 매 1회 투여될 수 있

다. 일부 구현예에서, 0.1 mg 내지 5000 mg, 1 mg 내지 4000 mg, 10 mg 내지 3000 mg, 10 mg 내지 2000 mg, 100 mg 내지 2000 mg, 150 mg 내지 2000 mg, 200 mg 내지 2000 mg, 250 mg 내지 2000 mg, 300 mg 내지 2000 mg, 350 mg 내지 2000 mg, 400 mg 내지 2000 mg, 450 mg 내지 2000 mg, 500 mg 내지 2000 mg, 550 mg 내지 2000 mg, 600 mg 내지 2000 mg, 650 mg 내지 2000 mg, 700 mg 내지 2000 mg, 750 mg 내지 2000 mg, 800 mg 내지 2000 mg, 850 mg 내지 2000 mg, 900 mg 내지 2000 mg, 950 mg 내지 2000 mg, 또는 1000 mg 내지 2000 mg의 용량 또는 양으로 항체가 대상체에 해마다 매 1회 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 450 mg 내지 2000 mg이 매년 이하 1회 투여된다.

[0218] 일부 구현예에서, 방법은 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)를 대상체에 복수의 일로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 복수의 일의 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 이상 일은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 초과 또는 더 많은 일 간격일 수 있다. 일부 구현예에서, 복수의 일의 2개는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 초과 또는 더 많은 일 간격이다. 게다가, 일부 구현예에서, 복수의 일의 제1 일에 투여된 항체의 양은 제2 일에 투여된 항체의 양과 상이할 (예를 들면, 높거나 낮을) 수 있다.

[0219] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)의 초기 용량 (예를 들면, 부하 용량)은 대상체에 투여, 그 다음 원하는 간격으로 하나 이상의 추가의 용량이 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 초기 용량 및 추가의 용량 중 하나 이상은 동일한 용량이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가의 용량은 초기 용량과 상이한 용량이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가의 용량이 투여되는 빈도는 일정하다 (예를 들면, 매달). 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가의 용량이 투여되는 빈도는 가변적이다 (예를 들면, 초기 용량 이후 1 개월에서 투여된 하나의 추가의 용량, 그 다음 초기 용량 이후 3 개월에서 또 다른 추가의 용량). 초기 부하 용량, 추가의 용량, 및 추가의 용량의 빈도 (예를 들면, 본원에서 기재된 것 포함)의 임의의 바람직한 및/또는 치료적 처방이 사용될 수 있다. 예시적인 처방은 피하로 투여된 항-CGRP 길항체 항체 675 mg의 초기 부하 용량, 그 다음 1 개월 간격에서 피하로 투여된 항체 225 mg의 차후의 유지 용량을 포함한다.

[0220] 일부 구현예에서, 하기: 0.1 μg, 1 μg, 100 μg, 1 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 450 mg, 475 mg, 500 mg, 525 mg, 550 mg, 575 mg, 600 mg, 625 mg, 650 mg, 675 mg, 700 mg, 725 mg, 750 mg, 775 mg, 800 mg, 825 mg, 850 mg, 875 mg, 900 mg, 925 mg, 950 mg, 975 mg, 1000 mg, 1500 mg, 2000 mg, 또는 3000 mg의 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)의 초기 용량이 대상체에 투여된 다음 하기: 0.1 μg, 1 μg, 100 μg, 1 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 450 mg, 475 mg, 500 mg, 525 mg, 550 mg, 575 mg, 600 mg, 625 mg, 650 mg, 675 mg, 700 mg, 725 mg, 750 mg, 775 mg, 800 mg, 825 mg, 850 mg, 875 mg, 900 mg, 925 mg, 950 mg, 975 mg, 1000 mg, 1500 mg, 2000 mg, 또는 3000 mg의 항체의 하나 이상의 추가의 용량이 투여될 수 있다.

[0221] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)의 용량 또는 양은, 예를 들면, 투여 경로 및/또는 투여된 특정한 제형에 따라, 하위-용량으로 분할될 수 있고 그리고 다중 하위-용량으로 투여될 수 있다. 용량이 피하로 투여되는 경우, 예를 들면, 단일 부위에서 더 큰, 단일 피하 주사를 피하기 위해 피하 용량은 다중 하위-용량으로 분할될 수 있고 그리고 각각의 하위-용량이 상이한 부위에서 투여될 수 있다. 예를 들면, 피하 용량 900 mg은 4개의 하위-용량 225 mg 각각으로 분할될 수 있고 그리고 각각 225 mg 용량은 상이한 부위에서 투여되고, 이는 각각의 부위에서 주사된 용적 최소화에 도움이 될 수 있다. 하위-용량의 분할은 균등 (예를 들면, 4 균등 하위-용량)일 수 있거나 또는 불균등 (예를 들면, 4 하위-용량, 하위-용량의 둘은 다른 하위-용량보다 2배만큼 큼)일 수 있다.

[0222] 일부 구현예에서, 치료의 과정 전반에 걸쳐 대상체에 투여된 항체의 용량의 수는, 예를 들면, 대상체에서 혈관 운동 증상 및/또는 두통의 발생빈도 감소 달성을 따라 다양할 수 있다. 일부 구현예에서, 혈관운동 증상은 두통 (예를 들면, 편두통, 만성적 편두통, 간헐적 편두통, 다른 유형의 두통, 등)의 형태에 관련된다. 예를 들면, 치료의 과정 전반에 걸쳐 투여된 용량의 수는 하기, 최소 하기, 또는 최대 하기일 수 있다: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50. 일부 경우에서 (예를 들면, 대상

체가 만성적 편두통을 갖는 경우에서), 치료는 무기한으로 제공될 수 있다. 일부 경우에서, 치료는 급성일 수 있어서 이로써 최대 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 용량이 치료를 위해 대상체에 투여된다.

[0223] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)의 용량 (또는 하위-용량) 또는 양은 액체 제형으로 제형화될 수 있고 그리고 대상체에 (예를 들면, 피하 주사를 통해, 정맥내 주사를 통해) 투여될 수 있다. 상기 경우에서, 항체를 포함하는 액체 제형의 용적은, 예를 들면, 액체 제형에서 항체의 농도, 항체의 원하는 용량, 및/또는 사용된 투여 경로에 따라 다양할 수 있다. 예를 들면 본원에 기재된 그리고 대상체에 (예를 들면, 주사, 예컨대, 예를 들면, 피하 주사 또는 정맥내 주사를 통해) 투여된 항체를 포함하는 액체 제형의 용적은 0.001 mL 내지 10.0 mL, 0.01 mL 내지 5.0 mL, 0.1 mL 내지 5 mL, 0.1 mL 내지 3 mL, 0.5 mL 내지 2.5 mL, 또는 1 mL 내지 2.5 mL일 수 있다. 예를 들면, 본원에 기재된 그리고 대상체에 (예를 들면, 주사, 예컨대, 예를 들면, 피하 주사 또는 정맥내 주사를 통해) 투여된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)를 포함하는 액체 제형의 용적은 하기, 최소 하기, 하기 미만, 또는 최대 하기일 수 있다: 0.001, 0.005, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.10, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 또는 10.0 mL.

[0224] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)의 용량 (또는 하위-용량) 또는 양은 대상체에 항체 투여에 유용한 미리충전된 소켓에서 공급될 수 있다. 상기 미리충전된 소켓은 자가-투여를 위해 또는 또 다른 것에 의한 투여를 위해 설계될 수 있다. 예를 들면, 본원에 기재된 항체의 용량 (또는 하위-용량) 또는 양은 예비 충전된 주사기에서 액체 제형으로서 공급될 수 있다. 상기 예에서, 예비 충전된 주사기는 자가-투여를 위해 또는 또 다른 것에 의한 투여를 위해 설계될 수 있다. 일부 경우에서, 예비 충전된 주사기는 피하 투여 및/또는 정맥내 투여를 위해 설계될 수 있다.

[0225] 본 발명의 목적을 위해, 제제가 예방적 또는 치료적 목적, 이전의 요법, 제제에 대한 환자의 임상 이력 및 반응, 및 주치의의 재량으로 투여되든 아니든, 항체의 적절한 복용량은 이용된 항체 (또는 그 조성물), 혈관운동 증상의 유형 및 중증도, 두통 (예를 들면, 편두통)의 유형 및 중증도 또는 치료받는 다른 질병에 의존할 수 있다. 원하는 결과를 달성하는 복용량이 도달될 때까지, 전형적으로 임상의는 항체를 투여할 것이다. 용량 및/또는 빈도는 치료의 전반에 걸쳐 다양할 수 있다.

[0226] 경험적 고려사항들, 예컨대 반감기는 일반적으로 복용량의 결정에 기여할 것이다. 예를 들면, 인간 면역계와 양립가능한 항체, 예컨대 인간화된 항체 또는 완전 인간 항체는 항체의 반감기를 연장하는데 그리고 숙주의 면역계에 의해 침범된 항체를 예방하는데 사용될 수 있다. 투여 빈도는 요법의 과정 전반에 걸쳐 결정 및 조정될 수 있고, 그리고 일반적으로, 비필연적으로, 두통 (예를 들면, 편두통) 또는 다른 질병의 치료 및/또는 억제 및/또는 완화 및/또는 지연에 기반한다. 대안적으로, 항체의 지속된 연속 방출 제형은 적절할 수 있다. 지속 방출을 달성하기 위하여 다양한 제형 및 디바이스는 당해기술에 공지되어 있다.

[0227] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)를 위한 복용량은 항체의 하나 이상의 투여(들)가 제공되는 개체에서 실험적으로 결정될 수 있다. 개체는 항체의 충분적 복용량이 제공된다. 항체의 효능을 평가하기 위해, 질환의 지시약이 따를 수 있다.

[0228] 본 발명의 방법에 따라 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)의 투여는, 투여 목적이 치료 또는 예방이든 아니든, 예를 들면, 수령체의 생리적 조건, 및 당업자에 공지된 다른 인자에 따라 연속적 또는 간헐적일 수 있다. 항체의 투여는 미리선택된 시간의 기간에 걸쳐 본질적으로 연속적일 수 있거나 또는 일련의 이격된 용량으로, 예를 들면, 두통 (예를 들면, 편두통) 발달 이전, 동안, 또는 이후; 이전; 동안; 이전 및 이후; 동안 및 이후; 이전 및 동안; 또는 두통 발달 이전, 동안 및 이후일 수 있다. 투여는 두통을 생기게 하기 쉬운 임의의 발병 이전, 동안 및/또는 이후일 수 있다.

[0229] 일부 구현예에서, 1 초과 항체가 존재할 수 있다. 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5 상이한, 또는 더 많은 항체가 존재할 수 있다. 일반적으로, 상기 항체는 서로 부정적으로 영향을 미치지 않는 상보적 활성을 가질 수 있다. 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항체 항체, 단클론성 항-CGRP 길항체 항체)는 또한 다른 CGRP 길항체 또는 CGRP 수용체 길항체와 함께 사용될 수 있다.

예를 들면, 하기 CGRP 길항제 중 하나 이상이 사용될 수 있다: CGRP에 관련된 안티-센스 분자 (핵산 암호화 CGRP에 관련된 안티-센스 분자 포함), CGRP 저해 화합물, CGRP 구조 유사체, CGRP에 결합하는 CGRP 수용체의 우세한-음성 돌연변이, 및 항-CGRP 수용체 항체. 항체는 또한 제제의 유효성을 증진 및/또는 보충하는 작용을 하는 다른 제제와 함께 사용될 수 있다.

[0230] 두통의 진단 또는 평가는 당해기술에 잘-화립된다. 평가는 주관적 측정, 예컨대 증상의 환자 특성규명에 기반하여 수행될 수 있다. 예를 들면, 편두통은 하기 기준에 기반하여 진단될 수 있다: 1) 4 내지 72 시간 지속하는 두통의 간헐적 공격과; 2) 하기 증상 중 2가지: 편측성 통증, 두근거림, 운동시 악화, 및 보통 또는 중증 세기의 통증; 및 3) 하기 증상 중 하나: 메스꺼움 또는 구토, 및 광선공포증 또는 음성공포증. Goadsby et al., N. Engl. J. Med. 346:257-270, 2002. 일부 구현예에서, 두통 (예를 들면, 편두통)의 평가는 본원에서 다른 곳에 기재된 바와 같이 두통 시간을 통해서 될 수 있다. 예를 들면 두통 (예를 들면, 편두통)의 평가는 매일 두통 시간, 매주 두통 시간, 매달 두통 시간 및/또는 매년 두통 시간에 관하여 될 수 있다. 일부 경우에서, 두통 시간은 대상체에 의해 보고된 바와 같을 수 있다.

[0231] 치료 효능은 당해기술에 공지된 방법에 의해 평가될 수 있다. 예를 들면, 통증 완화는 평가될 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 통증 완화는 항-CGRP 항체 투여 이후 1, 2, 또는 몇 시간 이후 주관적으로 관측된다. 일부 구현예에서, 두통 공격의 빈도는 항-CGRP 항체의 투여 이후 주관적으로 관측된다.

[0232] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같이 대상체에서 두통의 치료 또는 발생빈도 감소 방법은 시간의 연장된 기간 동안 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항제 항체, 단클론성 항-CGRP 길항제 항체)의 단일 투여 이후 두통의 발생빈도를 감소시킬 수 있다. 예를 들면, 두통의 발생빈도는 단일 투여 이후 최소 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50 이상 일 동안 감소될 수 있다.

[0233] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같이 대상체에서 두통의 치료 또는 발생빈도 감소 방법은 상기 대상체에게 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항제 항체, 단클론성 항-CGRP 길항제 항체)의 하나 이상의 용량의 투여 이후 사전-투여 수준으로부터 대상체에 의해 겪는 두통 시간의 수를 감소시킬 수 있다. 예를 들면, 상기 대상체에게 항체의 하나 이상의 용량 투여 이후 대상체에 의해 겪는 매일 두통 시간은 대상체에서 사전-투여 수준으로부터 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 또는 24 두통 시간만큼 감소될 수 있다. 일부 경우에서, 상기 대상체에게 항체의 하나 이상의 용량 투여 이후 대상체에 의해 겪는 매일 두통 시간은 대상체에서 사전-투여 수준에 비해 0.5%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 이상만큼 감소될 수 있다. 또 다른 예에서, 상기 대상체에게 항체의 하나 이상의 용량 투여 이후 대상체에 의해 겪는 매일 두통 시간은 대상체에서 사전-투여 수준으로부터 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125 이상 두통 시간만큼 감소될 수 있다. 일부 경우에서, 상기 대상체에게 항체의 하나 이상의 용량 투여 이후 대상체에 의해 겪는 매일 두통 시간은 대상체에서 사전-투여 수준에 비해 0.5%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 이상만큼 감소될 수 있다. 또 다른 예에서, 상기 대상체에게 항체의 하나 이상의 용량 투여 이후 대상체에 의해 겪는 매일 두통 시간은 대상체에서 사전-투여 수준으로부터 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125 이상 두통 시간만큼 감소될 수 있다. 일부 경우에서, 상기 대상체에게 항체의 하나 이상의 용량 투여 이후 대상체에 의해 겪는 매일 두통 시간은 대상체에서 사전-투여 수준에 비해 0.5%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 이상만큼 감소될 수 있다.

[0234] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같이 대상체에서 두통의 치료 또는 발생빈도 감소 방법은 상기 대상체에게 본원에 기재된 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항제 항체, 단클론성 항-CGRP 길항제 항체)의 하나 이상의 용량의 투여 이후 사전-투여 수준으로부터 대상체에 의해 겪는 두통 일의 수를 감소시킬 수 있다. 예를 들면, 상기 대상체에게 항체의 하나 이상의 용량 투여 이후 대상체에 의해 겪는 매주 두통 일은 대상체에서 사전-투여 수준으로부터 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 또는 7 두통 일만큼 감소될 수 있다. 일부 경우에서, 상기 대상체에게 항체의 하나 이상의 용량 투여 이후 대상체에 의해 겪는 매주 두통 일은 대상체에서 사전-투여 수준에 비해 0.5%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 이상만큼 감소될 수 있다. 또 다른 예에서, 상기 대상체에게 항체의 하나 이상의 용량 투여 이후 대상체에 의해 겪는 매주 두통 일은 사전-투여 수

준으로부터 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20 이상 두통 일만큼 감소될 수 있다.

[0235] 일부 구현예에서, 방법은 대상체에게 하나 이상의 추가 제제(들)을 항체 (예를 들면, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체, 항-CGRP 길항제 항체, 단클론성 항-CGRP 길항제 항체)와 동시에 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 추가 제제는 본원에 다른 곳에 기재된 항-두통 약물 예컨대 예 항-두통 약물 (예를 들면, 5-HT1 작용제, 트립탄, 맥각 알칼로이드, 아편제,  $\beta$ -아드레날린 길항제, NSAID)일 수 있다. 일부 구현예에서, 치료 효과는 항체 또는 하나 이상의 추가 제제(들) 단독의 사용과 비교시 더 클 수 있다. 따라서, 항체와 하나 이상의 추가 제제 사이의 상승작용 효과는 달성될 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가 제제(들)은 예방적으로 대상체에 의해 선택될 수 있다.

#### B. 항-CGRP 길항제 항체

[0237] 일부 구현예에서, 본 발명의 방법은 항-CGRP 길항제 항체일 수 있는 항체를 사용한다. 항-CGRP 길항제 항체는, CGRP 신호전달, 예컨대 수용체 결합 및/또는 CGRP에 대한 세포성 반응의 도출에 의해 매개된 다운스트림 경로를 포함하는, (유의미하게 포함) CGRP 생물학적 활성을 차단, 진압 또는 감소하는 임의의 항체 분자를 지칭할 수 있다.

[0238] 항-CGRP 길항제 항체는 하기 특성 중 임의의 하나 이상을 발휘할 수 있다: (a) CGRP에 대한 결합; (b) 그 수용체(들)에 대한 결합으로부터 CGRP 차단; (c) CGRP 수용체 활성화 (cAMP 활성화 포함) 차단 또는 감소; (d) CGRP 신호전달 기능에 의해 매개된 CGRP 생물학적 활성 또는 다운스트림 경로 억제; (e) 임의의 측면의 두통 (예를 들면, 편두통) 예방, 완화, 또는 치료; (f) CGRP의 청소능 증가; 및 (g) CGRP 합성, 생산 또는 방출 억제 (감소). 항-CGRP 길항제 항체는 당해기술에 공지되어 있다. 참고 예를 들면, Tan et al., Clin. Sci. (Lond). 89:565-73, 1995; 시그마(Sigma) (Missouri, US), 제품 번호 C7113 (클론 #4901); Plourde et al., Peptides 14:1225-1229, 1993.

[0239] 일부 구현예에서, 항체는, CGRP 신호전달 기능에 의해 매개된 다운스트림 경로를 포함하는, CGRP, 및/또는 CGRP 경로를 억제하는 방식으로 CGRP와 반응한다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 인간 CGRP를 인식한다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 양쪽 인간  $\alpha$ -CGRP 및  $\beta$ -CGRP에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 인간 및 랫트 CGRP에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 CGRP의 아미노산 25-37을 갖는 C-말단 단편을 결합한다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 CGRP의 아미노산 25-37 이내의 C-말단 에피토프에 결합한다.

[0240] 본 발명에서 유용한 항체는, 항체의 글리코실화 변이체, 항체의 아미노산 서열 변이체, 및 공유적으로 변형된 항체를 포함하는, 단클론성 항체, 다클론성 항체, 항체 단편 (예를 들면, Fab, Fab', F(ab')2, Fv, Fc, 등), 키메라성 항체, 이중특이적 항체, 헤테로콘주게이트 항체, 단일 사슬 (ScFv), 그 돌연변이체, 항체부 (예를 들면, 도메인 항체)를 포함하는 융합 단백질, 인간화된 항체, 및 필요한 특이성의 항원 인식 부위를 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 입체배치를 포함할 수 있다. 항체는 젖과, 랫트, 인간, 또는 임의의 다른 기원 (키메라성 또는 인간화된 항체 포함)일 수 있다.

[0241] 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 단클론성 항체이다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 인간화된다. 일부 구현예에서, 항체는 인간이다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 항체 G1 (본원에 기재된 바와 같이)이다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 G1의 변이체의 하나 이상의 CDR(들) (예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 또는, 일부 구현예에서, 모두 6개의 CDR)를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 항-CGRP 길항제 항체는 도 5에서 보여준 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 (서열식별번호: 1) 및 도 5에서 보여준 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 (서열식별번호: 2)을 포함한다.

[0242] 일부 구현예에서, 항체는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄 가변 영역 (LCVR) 및 중쇄 가변 영역 (HCV R)을 포함한다: (a) LCVR17 (서열식별번호: 58) 및 HCVR22 (서열식별번호: 59); (b) LCVR18 (서열식별번호: 60) 및 HCVR23 (서열식별번호: 61); (c) LCVR19 (서열식별번호: 62) 및 HCVR24 (서열식별번호: 63); (d) LCVR20 (서열식별번호: 64) 및 HCVR25 (서열식별번호: 65); (e) LCVR21 (서열식별번호: 66) 및 HCVR26 (서열식별번호: 67); (f) LCVR27 (서열식별번호: 68) 및 HCVR28 (서열식별번호: 69); (g) LCVR29 (서열식별번호: 70) 및 HCVR30 (서열식별번호: 71); (h) LCVR31 (서열식별번호: 72) 및 HCVR32 (서열식별번호: 73); (i) LCVR33 (서열식별번호: 74) 및 HCVR34 (서열식별번호: 75); (j) LCVR35 (서열식별번호: 76) 및 HCVR36 (서열식별번호: 77); 및 (k) LCVR37 (서열식별번호: 78) 및 HCVR38 (서열식별번호: 79). 상기 영역의 서열은 본원에 제공된다. 항체의 다른 예는 US20110305711, US20120294802, US20120294797, 및 US20100172895에 기재되고, 이는 본원에

서 참고로 편입된다.

[0243]

일부 구현예에서, 항체는 변형된 불변 영역, 예컨대 본원에 기재된 면역학적으로 불활성인 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 불변 영역은 하기에 기재된 바와 같이 변형된다: Eur. J. Immunol. (1999) 29:2613-2624; PCT 출원 번호 PCT/GB99/01441; 및/또는 영국 특허 출원 번호 9809951.8. 다른 구현예에서, 항체는 하기 돌연변이를 포함하는 인간 중쇄 IgG2 불변 영역을 포함한다: A330P331 내지 S330S331 (야생형 IgG2 서열을 참조로 아미노산 넘버링). Eur. J. Immunol. (1999) 29:2613-2624. 일부 구현예에서, 항체는 하기 돌연변이를 포함하는 IgG4의 불변 영역을 포함한다: E233F234L235 내지 P233V234A235. 또 다른 구현예에서, 불변 영역은 N-연결된 글리코실화에 대하여 비글리코실화된다. 일부 구현예에서, 불변 영역은 올리고당 부착 잔기 (예컨대 Asn297) 돌연변이 및/또는 불변 영역에서 N-글리코실화 인식 서열의 일부인 잔기 측집에 의해 N-연결된 글리코실화에 대하여 비글리코실화된다. 일부 구현예에서, 불변 영역은 N-연결된 글리코실화에 대하여 비글리코실화된다. 불변 영역은 효소적으로 또는 글리코실화 결핍된 숙주세포에서 발현에 의해 N-연결된 글리코실화에 대하여 비글리코실화될 수 있다.

[0244]

CGRP (예컨대 인간  $\alpha$ -CGRP)에 대한 항-CGRP 길항체 항체의 결합 친화도 ( $K_D$ )는 약 0.02 내지 약 200 nM일 수 있다. 일부 구현예에서, 결합 친화도는 임의의 약 200 nM, 약 100 nM, 약 50 nM, 약 10 nM, 약 1 nM, 약 500 pM, 약 100 pM, 약 60 pM, 약 50 pM, 약 20 pM, 약 15 pM, 약 10 pM, 약 5 pM, 또는 약 2 pM이다. 일부 구현예에서, 결합 친화도는 임의의 약 250 nM, 약 200 nM, 약 100 nM, 약 50 nM, 약 10 nM, 약 1 nM, 약 500 pM, 약 100 pM, 또는 약 50 pM 미만이다.

[0245]

CGRP에 대한 항체의 결합 친화도 결정의 한 방식은 항체의 일작용성 Fab 단편의 결합 친화도 측정이다. 일작용성 Fab 단편을 수득하기 위해, 항체 (예를 들면, IgG)는 파파인으로 절단될 수 있거나 또는 재조합으로 발현될 수 있다. 항체의 항-CGRP Fab 단편의 친화도는 HBS-EP 작동 버퍼 (0.01M HEPES, pH 7.4, 0.15 NaCl, 3mM EDTA, 0.005% v/v 계면활성제 P20)를 이용하는 미리-고정된 스트렙타비딘 센서 칩 (SA)이 구비된 표면 플라즈몬 공명 (Biacore3000™ 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 시스템, Biacore, INC, Piscataway NJ)에 의해 결정될 수 있다. 바이오티널화된 인간 CGRP (또는 임의의 다른 CGRP)는, 항원 밀도의 2가지 범위, 상세한 동력학 연구에 대하여 50-200 반응 단위 (RU) 또는 스크리닝 검정에 대하여 800-1,000 RU를 달성하기 위해, 0.5 ug/mL 미만의 농도로 HBS-EP 버퍼로 희석될 수 있고 그리고 가변성 접촉 시간을 이용한 개별 칩 채널을 가로질러 주사될 수 있다. 재생 연구는 25% v/v 에탄올에서 25mM NaOH가 결합된 Fab를 효과적으로 제거하면서 200 넘는 주사에 대하여 칩에서 CGRP의 활성을 유지함을 보여준다. 전형적으로, 정제된 Fab 샘플의 연속 희석액 (0.1-10x 추정된  $K_D$  범위 농도)은 100  $\mu$ L/분으로 1 분 동안 주사되고 그리고 최대 2 시간의 해리 시간이 허용된다. Fab 단백질의 농도는 표준으로서 (아미노산 분석에 의해 결정된 바와 같이) 공지된 농도의 Fab를 이용한 ELISA 및/또는 SDS-PAGE 전기영동에 의해 결정된다. 동력학 결합 속도 ( $k_{on}$ ) 및 해리 속도 ( $k_{off}$ )는 BIA평가 프로그램을 이용하여 1:1 행위 결합 모델 (Karlsson, R. Roos, H. Fagerstam, L. Petersson, B. (1994). Methods Enzymology 6. 99-110)에 대해 전면적으로 데이터를 맞춤으로써 동시에 수득된다. 평형 해리 상수 ( $K_D$ ) 값은  $k_{off}/k_{on}$ 으로서 계산된다. 상기 프로토콜은, 인간 CGRP, 또 다른 포유동물의 CGRP (예컨대 마우스 CGRP, 랫트 CGRP, 영장류 CGRP), 뿐만 아니라 CGRP의 상이한 형태 (예컨대  $\alpha$  및  $\beta$  형태)를 포함하는, 임의의 CGRP에 대한 항체의 결합 친화도 결정에서 사용에 적합하다. 항체의 결합 친화도는 일반적으로 25°C에서 측정되지만, 또한 37°C에서 측정될 수 있다.

[0246]

항-CGRP 길항체 항체를 포함하는, 항체는 당해분야에 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 본원에 추가로 기재된 바와 같이, 숙주 동물의 면역화의 경로 및 계획은 일반적으로 항체 자극 및 생산에 대하여 확립된 및 종래의 기술에 일치한다. 인간 및 마우스 항체의 생산을 위한 일반적인 기술은 당해기술에 공지되어 있고 그리고 본원에 기재되어 있다.

[0247]

인간 또는 그로부터 항체 생산 세포를 포함하는 임의의 포유동물 대상체가, 인간, 하이브리도마 세포주를 포함하는, 포유동물의 생산을 위한 근거로서 작용하도록 조작될 수 있음이 고려된다. 전형적으로, 숙주 동물은, 본원에 기재된 바와 같이 포함하는, 면역원의 양으로 복강내로, 근육내로, 경구로, 피하로, 뱀바닥내로, 및/또는 진피내로 예방접종된다.

[0248]

하이브리도마는 Kohler, B. 및 Milstein, C. (1975) Nature 256:495-497의 일반적인 체세포 하이브리드화 기술을 이용하여 또는 Buck, D. W., et al., In Vitro, 18:377-381 (1982)에 의해 변형된 채로 림프구 및 불멸화된 골수종 세포로부터 제조될 수 있다. 비제한적으로 X63-Ag8.653 및 Salk Institute, Cell Distribution Center,

San Diego, Calif., USA 제품을 포함하는, 이용가능한 골수종 라인은 하이브리드화에서 사용될 수 있다. 일반적으로, 상기 기술은 예컨대 폴리에틸렌 글리콜의 융합생성을 이용하여, 또는 당해분야의 숙련가에 잘 알려진 전기적 수단에 의해 골수종 세포와 림프구 세포의 융합을 포함한다. 융합 이후, 상기 세포는 융합 매질로부터 분리되고 그리고 선택적 성장 배지, 예컨대 하이포잔틴-아미노프테린-티미딘 (HAT) 배지에서 성장되어, 비하이브리드화된 모 세포를 제거한다. 혈청 있거나 없이 보강된, 본원에 기재된 임의의 배지는 단클론성 항체를 분비하는 하이브리도마 배양을 위해 사용될 수 있다. 세포 융합 기술에 대한 또 다른 대안으로서, EBV 불멸화된 B 세포는 본 발명의 단클론성 항체 (예를 들면, 단클론성 항-CGRP 항체)를 생산하는데 사용될 수 있다. 하이브리도마는, 원한다면, 팽창 및 아클론되고, 그리고 상청액은 종래의 면역검정 절차 (예를 들면, 방사선면역검정, 효소 면역검정, 또는 형광 면역검정)에 의해 항-면역원 활성에 대하여 검정된다.

[0249] 항체의 공급원으로서 사용될 수 있는 하이브리도마는 모든 유도체, CGRP에 특이적인 단클론성 항체를 생산하는 모 하이브리도마의 자손 세포, 또는 그 부분을 포함한다.

[0250] 상기 항체를 생산하는 하이브리도마는 공지된 절차를 이용하여 시험관내 또는 생체내 성장될 수 있다. 단클론성 항체는, 원한다면, 종래의 면역글로불린 정제 절차 예컨대 암모늄 살레이트 침전, 젤 전기영동, 투석, 크로마토그래피, 및 한외여과에 의해 배양 배지 또는 체액으로부터 단리될 수 있다. 존재한다면, 원하지 않는 활성은, 예를 들면, 고체 상에 부착된 면역원으로 만든 흡착제 위에 제조를 진행하고 면역원의 원하는 항체를 용리 또는 방출함으로써 제거될 수 있다. 인간 CGRP, 또는 면역화되는 종, 예를 들면, 열쇠구멍 잣갓조개해모시아닌, 혈청 알부민, 소 티로글로불린, 또는 이작용성 또는 유도화 제제를 이용하는 대두 트립신 저해제에서 면역원성인 단백질에 접합된 표적 아미노산 서열을 함유하는 단편, 예를 들면 말레이미도벤조일 살포석신이미드 에스테르 (시스테인 잔기를 통한 콘주게이션), N-하이드록시석신이미드 (라이신 잔기를 통한), 글루타르알데히드, 석신산 무수물, SOC12, 또는 R1N=C=NR (여기에서 R 및 R1은 상이한 알킬기이다)을 이용한 숙주 동물의 면역화는 항체 (예를 들면, 단클론성 항체)의 집단을 생산할 수 있다.

[0251] 원한다면, 관심 항체 (예를 들면, 단클론성 또는 다클론성 항-CGRP 길항제 항체)는 서열분석될 수 있고 그리고 그 다음 폴리뉴클레오타이드 서열은 발현 또는 전파를 위해 벡터속으로 클로닝될 수 있다. 관심 항체를 암호화하는 서열은 숙주 세포내 벡터에서 유지될 수 있고 그리고 숙주 세포는 그 다음 미래의 사용을 위해 팽창 및 냉동될 수 있다. 대안에서, 폴리뉴클레오타이드 서열은 유전자 조작을 위해 사용되어 항체를 "인간화"할 수 있거나 또는 항체의 친화도, 또는 다른 특성을 개선할 수 있다. 예를 들면, 만일 항체가 인간에 있어서 임상시험 및 치료에서 사용되면 불변 영역은 인간 불변 영역을 더욱 닮기 위해 조작되어 면역 반응을 피할 수 있다. CGRP에 대한 더 큰 친화도 및 CGRP 억제에서 더 큰 효능을 얻기 위해 항체 서열을 유전적으로 조작하는 것이 바람직할 수 있다. 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 변화가 항-CGRP 길항제 항체에 대해 실시될 수 있고 CGRP에 대한 그 결합 능력을 여전히 유지한다는 것은 당해분야의 숙련가에게 분명할 것이다.

[0252] 단클론성 항체 인간화는 4 일반적인 단계를 포함할 수 있다. 이들은 하기이다: (1) 뉴클레오타이드 및 개시 항체 경 및 중 가변 도메인의 예상된 아미노산 서열 결정, (2) 인간화된 항체 설계, 즉, 인간화 과정 동안 사용하기 위한 항체 프레임워크 영역 결정, (3) 실제 인간화 방법론/기술 및 (4) 인간화된 항체의 형질감염 및 발현. 참고, 예를 들면, 미국 특허 번호 4,816,567; 5,807,715; 5,866,692; 6,331,415; 5,530,101; 5,693,761; 5,693,762; 5,585,089; 및 6,180,370.

[0253] 인간 불변 도메인에 융합된 설치류 또는 변형된 설치류 V 영역 및 그 관련된 상보성 결정 영역 (CDR)을 갖는 키메라성 항체를 포함하는, 비-인간 면역글로불린으로부터 유도된 항원-결합 부위를 포함하는 다수의 "인간화된" 항체 문자가 기재되고 있다. 참고, 예를 들면, Winter et al. Nature 349:293-299 (1991), Lobuglio et al. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 86:4220-4224 (1989), Shaw et al. J Immunol. 138:4534-4538 (1987), 및 Brown et al. Cancer Res. 47:3577-3583 (1987). 다른 참조문헌은 적절한 인간 항체 불변 도메인과 융합 이전에 인간 지지 프레임워크 영역 (FR)에 이식된 설치류 CDR를 기재한다. 참고, 예를 들면, Riechmann et al. Nature 332:323-327 (1988), Verhoeven et al. Science 239:1534-1536 (1988), 및 Jones et al. Nature 321:522-525 (1986). 또 다른 참조문헌은 재조합적으로 베니어드 설치류 프레임워크 영역에 의해 지지된 설치류 CDR를 기재한다. 참고, 예를 들면, 유럽 특허 공개 번호 0519596. 이들 "인간화된" 문자는 인간 수령체내 상기 모이어티의 치료적 적용의 지속시간 및 유효성을 제한하는 설치류 항-인간 항체 문자에 대한 원치않는 면역학적 반응을 최소화하도록 설계된다. 예를 들면, 항체 불변 영역은 조작될 수 있어서 이로써 면역학적으로 불활성된다 (예를 들면, 보체 용해를 유발하지 않는다). 참고, 예를 들면 PCT 공개 번호 PCT/GB99/01441; 영국 특허 출원 번호 9809951.8. 또한 이용될 수 있는 인간화 항체의 다른 방법은 하기에 의해 개시된다: Daugherty et al., Nucl. Acids Res. 19:2471-2476 (1991) 및 미국 특허 번호 6,180,377; 6,054,297; 5,997,867; 5,866,692;

6,210,671; 및 6,350,861; 및 PCT 공개 번호 WO 01/27160.

[0254] 추가의 또 다른 대안에서, 완전 인간 항체는 특이적 인간 면역글로불린 단백질을 발현하도록 조작되는 상업적으로 이용가능한 마우스 이용에 의해 수득될 수 있다. 더 바람직한 (예를 들면, 완전 인간 항체) 또는 더 강력한 면역 반응을 생산하도록 설계되는 형질전환 동물은 또한 인간화된 또는 인간 항체의 발생을 위해 사용될 수 있다. 상기 기술의 예는 하기이다: Abgenix, Inc. (Fremont, CA) 제 Xenomouse™ 및 Medarex, Inc. (Princeton, NJ) 제 HuMAB-Mouse® 및 TC Mouse™.

[0255] 대안에서, 항체는 당해분야에 공지된 임의의 방법을 이용하여 재조합적으로 제조될 수 있고 발현될 수 있다. 또 다른 대안에서, 항체는 파아지 디스플레이 기술에 의해 재조합적으로 제조될 수 있다. 참고, 예를 들면, 미국 특허 번호 5,565,332; 5,580,717; 5,733,743; 및 6,265,150; 및 Winter et al., *Annu. Rev. Immunol.* 12:433-455 (1994). 대안적으로, 파아지 디스플레이 기술 (McCafferty et al., *Nature* 348:552-553 (1990))은 비면역화된 공여체로부터 면역글로불린 가변 (V) 도메인 유전자 레퍼토리로부터 시험관내 인간 항체 및 항체 단편을 생산하는데 사용될 수 있다. 상기 기술에 따라, 항체 V 도메인 유전자는 섬사상 박테리오파아지, 예컨대 M13 또는 fd의 대 또는 소 피막 단백질 유전자에 인프레임 클로닝되고, 그리고 파아지 입자의 표면에 기능적 항체 단편으로서 표시된다. 섬사상 입자가 파아지 게놈의 단일가닥 DNA 복사본을 함유하기 때문에, 항체의 기능적 특성에 기반한 선택은 또한 상기 특성을 발휘하는 항체를 암호화하는 유전자의 선택을 초래한다. 따라서, 파아지는 B 세포의 일부 특성을 모방한다. 파아지 디스플레이에는 다양한 포맷으로 수행될 수 있다; 검토를 위해 참고: 예를 들면, Johnson, Kevin S. and Chiswell, David J., *Current Opinion in Structural Biology* 3:564-571 (1993). V-유전자 분절의 몇 개의 공급원은 파아지 디스플레이를 위해 사용될 수 있다. Clackson et al., *Nature* 352:624-628 (1991)은 면역화된 마우스의 비장으로부터 유도된 V 유전자의 작은 랜덤 조합 라이브러리로부터 항-옥사졸론 항체의 다양한 배열을 단리하였다. 비면역화된 인간 공여체로부터 V 유전자의 레퍼토리는 제작될 수 있고 그리고 항원 (자가-항원 포함)의 다양한 배열에 대한 항체는 하기의 기재된 기술을 본질적으로 따라 단리될 수 있다: Mark et al., *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1991), 또는 Griffith et al., *EMBO J.* 12:725-734 (1993). 천연 면역 반응에서, 항체 유전자는 고 속도로 돌연변이 (체세포 초돌연변이)를 축적한다. 도입된 변화의 일부는 높은 친화도를 제공할 것이고, 그리고 고-친화도 표면 면역글로불린을 나타내는 B 세포는 우선적으로 복제되고 차후의 항원 유발 동안 분화된다. 상기 자연적 과정은 "사슬 셀플링"으로서 공지된 기술을 사용함으로써 모방될 수 있다. Marks, et al., *Bio/Technol.* 10:779-783 (1992). 상기 방법에서, 파아지 디스플레이에 의해 수득된 "일차" 인간 항체의 친화도는 중쇄 및 경쇄 V 영역 유전자를 비면역화된 공여체로부터 수득된 V 도메인 유전자의 천연 발생 변이체 (레퍼토리)의 레퍼토리로 순차적으로 대체함으로써 개선될 수 있다. 상기 기술은 pM-nM 범위로 친화도를 갖는 항체 및 항체 단편을 생산하도록 한다. 매우 큰 파아지 항체 레퍼토리 ("모든 라이브러리의 모"로도 공지됨) 제조 전략은 Waterhouse et al., *Nucl. Acids Res.* 21:2265-2266 (1993)에 의해 기재된다. 유전자 셀플링은 또한 설치류 항체로부터 인간 항체를 유도하는데 사용될 수 있고, 여기에서 인간 항체는 개시 설치류 항체에 대해 유사한 친화도 및 특이성을 갖는다. 또한 일명 "에피토프 각인"인, 상기 방법에 따라, 파아지 디스플레이 기술에 의해 수득된 설치류 항체의 중쇄 또는 경쇄 V 도메인 유전자는 인간 V 도메인 유전자의 레퍼토리로 대체되어, 설치류-인간 키메라를 생성한다. 항원 선택은 기능적 항원-결합 부위를 회복할 수 있는 인간 가변 영역의 단리를 초래한다, 즉, 에피토프는 상대의 선택을 지배한다 (각인한다). 잔여 설치류 V 도메인을 대체하기 위해 상기 과정이 반복되는 경우, 인간 항체가 수득된다 (참고 PCT 공개 번호 WO 93/06213, 1993년 4월 1일 공개). CDR 이식에 의한 설치류 항체의 전통적 인간화와 달리, 상기 기술은 설치류 기원의 프레임워크 또는 CDR 잔기를 갖지 않는 완전히 인간 항체를 제공한다.

[0256] 비록 상기 논의가 인간화된 항체와 관련하여도, 논의된 일반적인 원리는, 예를 들면, 개, 고양이, 영장류, 말 및 소에서 사용을 위한 항체를 주문제작하는데 적용가능함이 분명하다. 본원에 기재된 항체 인간화의 하나 이상의 측면, 예를 들면, CDR 이식, 프레임워크 돌연변이 및 CDR 돌연변이가 조합될 수 있음이 추가로 분명하다.

[0257] 항체는 숙주 동물로부터 항체 및 항체 생산 세포를 먼저 단리시키고, 그리고 숙주세포 (예를 들면, CHO 세포)에서 재조합적으로 항체를 발현하는데 유전자 서열을 이용함으로써 재조합적으로 제조될 수 있다. 이용될 수 있는 또 다른 방법은 식물 (예를 들면, 담배) 또는 형질전환 유액(milky)에서 항체 서열을 발현하는 것이다. 식물 또는 유액에서 재조합적으로 항체를 발현하기 위한 방법이 개시된다. 참고, 예를 들면, Peeters, et al. *Vaccine* 19:2756 (2001); Lonberg, N. and D. Huszar *Int. Rev. Immunol.* 13:65 (1995); 및 Pollock, et al., *J. Immunol. Methods* 231:147(1999). 항체의 유도체, 예를 들면, 인간화된, 단일 사슬 등의 제조 방법은 당해기술에 공지되어 있다.

[0258] 면역검정 및 유세포측정 분류 기술 예컨대 형광 활성화된 세포 분류 (FACS)는 또한 CGRP에 대해 특이적인 항체

를 단리하는데 이용될 수 있다.

[0259] 항체는 많은 상이한 담체에 결합될 수 있다. 담체는 활성 및/또는 불활성일 수 있다. 공지된 담체의 예는 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리에틸렌, 텍스트란, 나일론, 아밀라아제, 유리, 천연 및 변형된 셀룰로오스, 폴리아크릴아미드, 아가로스 및 자철석을 포함한다. 담체의 성질은 가용성 또는 불용성일 수 있다. 당해분야의 숙련가는 항체 결합을 위해 다른 적합한 담체에 대해 간접적으로 알 것이거나, 또는 일상적인 실험과정을 이용하여 상기를 확인할 수 있을 것이다. 일부 구현예에서, 담체는 심근을 표적하는 모이어티를 포함한다.

[0260] 단클론성 항체를 암호화하는 DNA는 종래의 절차를 이용하여 (예를 들면, 단클론성 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용함으로써) 쉽게 단리되고 그리고 서열분석된다. 하이브리도마 세포는 상기 DNA의 바람직한 공급원으로서 작용한다. 일단 단리되면, DNA는 발현 벡터 (예컨대 PCT 공개 번호 WO 87/04462에 개시된 발현 벡터)에 배치될 수 있고, 그 다음 면역글로불린 단백질을 달리 생산하지 않는 숙주세포 예컨대 E. 콜리 세포, 유인원 COS 세포, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포, 또는 골수종 세포속에 형질감염되어, 재조합 숙주세포에서 단클론성 항체의 합성을 수득한다. 참고, 예를 들면, PCT 공개 번호 WO 87/04462. DNA는 또한, 예를 들면, 동형 젖과 서열, Morrison et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 81:6851 (1984) 대신 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인을 위한 암호화 서열을 치환함으로써, 또는 비면역글로불린 폴리펩타이드를 위한 면역글로불린 암호화 서열 모두 또는 암호화 서열의 일부에 공유적으로 연결함으로써 변형될 수 있다. 상기 방식에서, 본원에서 항-CGRP 단클론성 항체의 결합 특이성을 갖는 "키메라성" 또는 "하이브리드" 항체가 제조된다.

[0261] 항체 (예를 들면, 항-CGRP 길항체 항체) 및 항체로부터 유도된 폴리펩타이드는 당해분야에서 공지된 방법을 이용하여 확인 또는 특성규명될 수 있고, 이로써 CGRP 생물학적 활성의 감소, 완화, 또는 중화는 검출 및/또는 측정된다. 예를 들면, 항-CGRP 길항체 항체는 또한 CGRP로 후보 제제 인큐베이팅 및 하기 특성 중 임의의 하나 이상 모니터링에 의해 확인될 수 있다: (a) CGRP에 결합; (b) 그 수용체(들)에 결합으로부터 CGRP 차단; (c) CGRP 수용체 활성화 (cAMP 활성화 포함) 차단 또는 감소; (d) CGRP 신호전달 기능에 의해 매개된 CGRP 생물학적 활성 또는 다운스트림 경로 억제; (e) 임의의 측면의 두통 (예를 들면, 편두통) 예방, 완화, 또는 치료; (f) CGRP의 청소능 증가; 및 (g) CGRP 합성, 생산 또는 방출 억제 (감소). 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항체 항체 또는 폴리펩타이드는 CGRP로 후보 제제 인큐베이팅 및 CGRP의 생물학적 활성의 결합 및/또는 수반되는 감소 또는 중화 모니터링에 의해 확인된다. 결합 검정은 정제된 CGRP 폴리펩타이드(들)로, 또는 자연적으로 발현하는 세포로 수행될 수 있거나, 또는 CGRP 폴리펩타이드(들)를 발현하기 위해 형질감염될 수 있다. 일부 구현예에서, 결합 검정은 경쟁적 결합 검정이고, 여기에서 CGRP 결합을 위해 공지된 항-CGRP 길항체와 경쟁하기 위한 후보 항체의 능력은 평가된다. 검정은 ELISA 포맷을 포함하는, 다양한 포맷으로 수행될 수 있다. 다른 구현예에서, 항-CGRP 길항체 항체는 CGRP로 후보 제제 인큐베이팅 및 세포의 표면에서 발현된 CGRP 수용체 활성화의 결합 및 수반되는 저해 모니터링에 의해 확인된다.

[0262] 초기 확인 이후, 후보 항체 (예를 들면, 항-CGRP 길항체 항체)의 활성을, 표적화된 생물학적 활성을 시험하기 위해 공지된, 생물학적 검정에 의해 추가로 확인 및 정제될 수 있다. 대안적으로, 생물학적 검정은 후보를 직접적으로 스크리닝하는데 사용될 수 있다. 예를 들면, CGRP는 반응성 세포에서 다수의 측정가능한 변화를 촉진시킨다. 이들은, 비제한적으로, 세포 (예를 들면, SK-N-MC 세포)에서 cAMP의 자극을 포함한다. 길항체 활성은 또한 동물 모델을 이용하여, 예컨대 렉트 복제 신경의 자극에 의해 유도된 피부 혈관확장을 평가하여 측정될 수 있다. Escott et al., Br. J. Pharmacol. 110: 772-776, 1993. 두통 (예컨대, 편두통)의 동물 모델은 길항체 항체 또는 폴리펩타이드의 효능 시험을 위해 추가로 사용될 수 있다. Reuter, et al., Functional Neurology (15) Suppl.3, 2000. 항-CGRP 길항체 항체 또는 폴리펩타이드의 확인 및 특성규명 방법의 일부는 실시예에 상세히 기재된다.

[0263] 항-CGRP 길항체 항체를 포함하는, 항체는 당해기술에서 잘 알려진 방법을 이용하여 특성규명될 수 있다. 예를 들면, 한 방법은 결합하는 에피토프를 확인하는 것, 또는 "에피토프 맵핑"이다. 예를 들면, Chapter 11 of Harlow and Lane, Using Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1999에 기재된 바와 같이, 항체-항원 복합체의 결정 구조 해결, 경쟁 검정, 유전자 단편 발현 검정, 및 합성 펩타이드-기반 검정을 포함하는, 단백질에서 에피토프의 맵핑 및 위치 특성규명을 위해 많은 당해분야에서 공지된 방법이 있다. 추가의 예에서, 에피토프 맵핑은 항-CGRP 길항체 항체가 결합하는 서열을 결정하는데 사용될 수 있다. 에피토프 맵핑은 다양한 공급원, 예를 들면, 웹스캔 시스템 (Edelhertweg 15, 8219 PH Lelystad, The Netherlands)으로부터 상업적으로 이용가능하다. 에피토프는, 즉, 아미노산의 단일 스트레치에서 함유될 수 있는 선형 에피토프일 수 있거나, 또는 단일 스트레치에 필연적으로 함유되지 않을 수

있는 아미노산의 3차원 상호작용에 의해 형성된 형태적 에피토프일 수 있다. 가변 길이 (예를 들면, 적어도 4-6 아미노산 긴)의 웹타이드는 (예를 들면, 재조합적으로) 단리 또는 합성될 수 있고 그리고 항-CGRP 길항제 항체로 결합 검정을 위해 사용될 수 있다. 또 다른 예에서, 항-CGRP 길항제 항체가 결합하는 에피토프는 CGRP 서열로부터 유도된 중첩 웹타이드 이용 및 항-CGRP 길항제 항체에 의한 결합 결정에 의해 전신 스크리닝에서 결정될 수 있다. 유전자 단편 발현 검정에 따라, CGRP를 암호화하는 개방형 해독들은 무작위로 또는 특정 유전 작제물에 의해 단편화되고 그리고 시험되는 항체로 CGRP의 발현된 단편의 반응성은 결정된다. 유전자 단편은, 예를 들면, PCR에 의해 생산될 수 있고 그리고 그 다음 방사성 아미노산의 존재하에 시험관내 단백질로 전사 및 번역될 수 있다. 방사성 표지된 CGRP 단편에 항체의 결합은 그 다음 면역침강 및 겔 전기영동에 의해 결정된다. 특정 에피토프는 또한 파아지 입자 (파아지 라이브러리)의 표면에 표시된 랜덤 웹타이드 서열의 큰 라이브러리를 이용함으로써 확인될 수 있다. 대안적으로, 중첩 웹타이드 단편의 정의된 라이브러리는 단순 결합 검정에서 시험 항체에 결합을 위해 시험될 수 있다. 추가의 예에서, 항원 결합 도메인의 돌연변이 생성, 도메인 교환 실험 및 알라닌 스캐닝 돌연변이 생성은 에피토프 결합에 요구되는, 충분한, 및/또는 필요한 잔기를 확인하기 위해 수행될 수 있다. 예를 들면, 도메인 교환 실험은 CGRP 폴리웹타이드의 다양한 단편이 밀접하게 관련된, 그러나 항원적으로 뚜렷이 다른 단백질 (예컨대 뉴로트로핀 단백질 패밀리의 또 다른 구성원)로부터의 서열로 대체되는 (교환되는) 돌연변이체 CGRP를 이용하여 수행될 수 있다. 돌연변이체 CGRP에 항체의 결합을 평가함으로써, 항체 결합에 대한 특정한 CGRP 단편의 중요성은 평가될 수 있다.

[0264]

항-CGRP 길항제 항체를 포함하는, 항체를 특성규명하는데 사용될 수 있는 추가의 또 다른 방법은 동일한 항원, 즉, CGRP의 다양한 단편에 결합하기 위해 공지된 다른 항체로 경쟁 검정을 사용하여, 다른 항체로서 동일한 에피토프에 항-CGRP 길항제 항체가 결합하는지를 결정하는 것이다. 경쟁 검정은 당해분야의 숙련가에 잘 알려졌다.

[0265]

항-CGRP 길항제 항체를 포함하는, 발현 벡터는 항체의 직접적인 발현에 사용될 수 있다. 당해분야의 숙련가는 생체내 외인성 단백질의 발현을 수득하기 위한 발현 벡터의 투여에 익숙하다. 참고, 예를 들면, 미국 특허 번호 6,436,908; 6,413,942; 및 6,376,471. 발현 벡터의 투여는, 주사, 경구 투여, 입자총 또는 카테터를 삽입한 투여, 및 국소 투여를 포함하는, 국소 또는 전신 투여를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 발현 벡터는 교감신경간 또는 신경절, 또는 관상동맥, 심방, 심실, 또는 심낭막에 직접적으로 투여된다.

[0266]

발현 벡터, 또는 서브게놈 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 치료적 조성물의 표적화된 전달이 또한 사용될 수 있다. 수용체-매개된 DNA 전달 기술은, 예를 들면, 하기에 기재된다: Findeis et al., Trends Biotechnol. (1993) 11:202; Chiou et al., Gene Therapeutics: Methods And Applications Of Direct Gene Transfer (J.A. Wolff, ed.) (1994); Wu et al., J. Biol. Chem. (1988) 263:621; Wu et al., J. Biol. Chem. (1994) 269:542; Zenke et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 87:3655; Wu et al., J. Biol. Chem. (1991) 266:338. 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 치료적 조성물은 유전자 요법 프로토콜에서 국소 투여를 위해 DNA의 약 100 ng 내지 약 200 ng 범위로 투여된다. DNA의 약 500 ng 내지 약 50 mg, 약 1  $\mu$ g 내지 약 2 mg, 약 5  $\mu$ g 내지 약 500  $\mu$ g, 및 약 20  $\mu$ g 내지 약 100  $\mu$ g의 농도 범위는 또한 유전자 요법 프로토콜 동안 사용될 수 있다. 치료적 폴리뉴클레오타이드 및 폴리웹타이드는 유전자 전달 비히클을 이용하여 전달될 수 있다. 유전자 전달 비히클은 바이러스 또는 비-바이러스 기원일 수 있다 (참고 일반적으로, Jolly, Cancer Gene Therapy (1994) 1:51; Kimura, Human Gene Therapy (1994) 5:845; Connelly, Human Gene Therapy (1995) 1:185; 및 Kaplitt, Nature Genetics (1994) 6:148). 상기 암호화 서열의 발현은 내인성 포유동물 또는 이형 프로모터를 이용하여 유도될 수 있다. 암호화 서열의 발현은 항시적 또는 조절될 수 있다.

[0267]

원하는 폴리뉴클레오타이드의 전달 및 원하는 세포에서의 발현을 위한 바이러스-기반 벡터는 당해기술에 공지되어 있다. 예시적인 바이러스-기반 비히클은, 비제한적으로, 하기를 포함한다: 재조합 레트로바이러스 (참고, 예를 들면, PCT 공개 번호 WO 90/07936; WO 94/03622; WO 93/25698; WO 93/25234; WO 93/11230; WO 93/10218; WO 91/02805; 미국 특허 번호 5,219,740 및 4,777,127; 영국 특허 번호 2,200,651; 및 유럽 특허 번호 0 345 242), 알파바이러스-기반 벡터 (예를 들면, 신드비스 바이러스 벡터, 셈리키 포레스트 바이러스 (ATCC VR-67; ATCC VR-1247), 로스 리버 바이러스 (ATCC VR-373; ATCC VR-1246) 및 베네주엘라 말 뇌염 바이러스 (ATCC VR-923; ATCC VR-1250; ATCC VR 1249; ATCC VR-532)), 및 아데노-관련된 바이러스 (AAV) 벡터 (참고, 예를 들면, PCT 공개 번호 WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 및 WO 95/00655). Curiel, Hum. Gene Ther. (1992) 3:147에 기재된 바와 같이 죽은 아데노바이러스에 연결된 DNA의 투여는 또한 이용될 수 있다.

[0268]

비제한적으로, 하기를 포함하는, 비-바이러스 전달 비히클 및 방법이 또한 이용될 수 있다: 죽은 아데노바이러

스 단독에 연결된 또는 비연결된 다중양이온성 축합된 DNA (참고, 예를 들면, Curiel, *Hum. Gene Ther.* (1992) 3:147); 리간드-연결된 DNA (참고, 예를 들면, Wu, *J. Biol. Chem.* (1989) 264:16985); 진핵 세포 전달 비히클 세포 (참고, 예를 들면, 미국 특허 번호 5,814,482; PCT 공개 번호 WO 95/07994; WO 96/17072; WO 95/30763; 및 WO 97/42338) 및 핵 전하 중화 또는 세포막과 융합. 노출된 DNA가 또한 이용될 수 있다. 예시적인 노출된 DNA 도입 방법은 PCT 공개 번호 WO 90/11092 및 미국 특허 번호 5,580,859에 기재된다. 유전자 전달 비히클로서 작용할 수 있는 리포좀은 미국 특허 번호 5,422,120; PCT 공개 번호 WO 95/13796; WO 94/23697; WO 91/14445; 및 EP 0524968에 기재된다. 추가의 접근법은 Philip, *Mol. Cell Biol.* (1994) 14:2411, 및 Woffendin, *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1994) 91:1581에 기재된다.

C. 항체 G1 및 관련된 항체, 폴리펩타이드, 폴리뉴클레오타이드, 벡터 및 숙주세포

본 발명은, 표 6에서 보여준 항체 G1 및 그 변이체 또는 표 6에서 보여준 항체 G1 및 그 변이체로부터 유도된 폴리펩타이드; 및 G1 및 그 변이체 또는 폴리펩타이드를 암호화하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는, 약제학적 조성물을 포함하는, 조성물을 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 CGRP에 결합하는 (항체일 수 있거나 아닐 수 있는) 하나 이상의 항체 또는 폴리펩타이드, 및/또는 CGRP에 결합하는 하나 이상의 항체 또는 폴리펩타이드를 암호화하는 서열을 포함하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 상기 조성물은 추가로 적합한 부형제, 예컨대 당해기술에 공지되어 있는 베피를 포함하는 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함할 수 있다.

일부 구현예에서, 본 발명의 항-CGRP 길항제 항체 및 폴리펩타이드는 임의의 (하나 이상의) 하기 특징에 의해 특성규명된다: (a) CGRP에 결합; (b) 그 수용체(들)에 결합으로부터 CGRP 차단; (c) CGRP 수용체 활성화 (cAMP 활성화 포함) 차단 또는 감소; (d) CGRP 신호전달 기능에 의해 매개된 CGRP 생물학적 활성 또는 다운스트림 경로 억제; (e) 임의의 측면의 두통 (예를 들면, 편두통) 예방, 완화, 또는 치료; (f) CGRP의 청소능 증가; 및 (g) CGRP 합성, 생산 또는 방출 억제 (감소).

일부 구현예에서, 본 발명은 임의의 하기, 또는 임의의 하기를 포함하는 조성물 (약제학적 조성물 포함)을 제공한다: (a) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체; (b) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 단편 또는 영역; (c) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 경쇄; (d) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 중쇄; (e) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 경쇄 및/또는 중쇄로부터 하나 이상의 가변 영역(들); (f) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 하나 이상의 CDR(들) (1, 2, 3, 4, 5 또는 6 CDR); (g) 항체 G1의 중쇄로부터 CDR H3; (h) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 경쇄로부터 CDR L3; (i) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 경쇄로부터 3 CDR; (j) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 중쇄로부터 3 CDR; (k) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 경쇄로부터 3 CDR 및 중쇄로부터 3 CDR; 및 (l) (b) 내지 (k) 중 임의의 하나를 포함하는 항체. 일부 구현예에서, 본 발명은 또한 상기 중 임의의 하나 이상을 포함하는 폴리펩타이드를 제공한다.

항체 G1 (초티아 및 카밧 CDR 포함)의 CDR 부분은 도 5에서 도식적으로 묘사된다. CDR 영역의 결정은 당해분야의 기술내이다. 일부 구현예에서, CDR가 카밧 및 초티아 CDR의 조합 (또한 "조합된 CDR" 또는 "확장된 CDR"로 지칭)일 수 있음이 이해된다. 일부 구현예에서, CDR는 카밧 CDR이다. 다른 구현예에서, CDR는 초티아 CDR이다. 환언하면, 1 초과 CDR을 이용한 구현예에서, CDR는 임의의 카밧, 초티아, 조합 CDR, 또는 이들의 조합일 수 있다.

일부 구현예에서, 본 발명은 표 6에서 보여준 G1 또는 그 변이체의 적어도 1 CDR, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5 또는 모두 6개의 CDR와 실질적으로 동일한 적어도 1 CDR, 적어도 2, 적어도 3, 또는 적어도 4, 적어도 5, 또는 모두 6개의 CDR를 포함하는 (항체일 수 있거나 아닐 수 있는) 폴리펩타이드를 제공한다. 다른 구현예는 G1의 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 CDR와 실질적으로 동일하거나 또는 G1로부터 유도되는 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 CDR(들)을 갖는 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR(들)은 표 6에서 보여준 G1 또는 그 변이체의 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR와 적어도 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일하다. 본 발명의 목적을 위해, 비록 활성의 범위가 표 6에서 보여준 G1 또는 그 변이체와 비교하여 다양할 수 있어도 (더 클 수 있거나 작을 수 있어도), 결합 특이성 및/또는 전반적인 활성은 일반적으로 유지됨이 이해된다.

일부 구현예에서, 본 발명은 또한 임의의 하기: 표 6에서 보여준 G1 또는 그 변이체의 서열의 적어도 5 인접 아미노산, 적어도 8 인접 아미노산, 적어도 약 10 인접 아미노산, 적어도 약 15 인접 아미노산, 적어도 약 20 인접 아미노산, 적어도 약 25 인접 아미노산, 적어도 약 30 인접 아미노산을 갖는 표 6에서 보여준 G1 또는 그 변

이체의 아미노산 서열을 포함하는 (항체일 수 있거나 아닐 수 있는) 폴리펩타이드를 제공하고, 여기서 적어도 3개의 아미노산은 표 6에서 보여준 G1 (도 5) 또는 그 변이체의 가변 영역에서 유래한다. 일부 구현예에서, 가변 영역은 G1의 경쇄에서 유래한다. 또 다른 구현예에서, 가변 영역은 G1의 중쇄에서 유래한다. 예시적인 폴리펩타이드는 G1의 양쪽 중쇄 및 경쇄 가변 영역으로부터 인접 아미노산 (상기 기재된 길이)을 갖는다. 또 다른 구현 예에서, 5 (이상) 인접 아미노산은 도 5에서 보여준 G1의 상보성 결정 영역 (CDR)에서 유래한다. 일부 구현예에서, 인접 아미노산은 G1의 가변 영역에서 유래한다.

[0276] CGRP (예컨대 인간  $\alpha$ -CGRP)에 대한 항-CGRP 길항제 항체 및 폴리펩타이드의 결합 친화도 ( $K_D$ )는 약 0.06 nM 내지 약 200 nM일 수 있다. 일부 구현예에서, 결합 친화도는 임의의 약 200 nM, 100 nM, 약 50 nM, 약 10 nM, 약 1 nM, 약 500 pM, 약 100 pM, 약 60 pM, 약 50 pM, 약 20 pM, 약 15 pM, 약 10 pM, 약 5 pM, 또는 약 2 pM이다. 일부 구현예에서, 결합 친화도는 임의의 약 250 nM, 약 200 nM, 약 100 nM, 약 50 nM, 약 10 nM, 약 1 nM, 약 500 pM, 약 100 pM, 또는 약 50 pM 미만이다.

[0277] 일부 구현예에서, 본 발명은 또한 임의의 이들 항체 또는 폴리펩타이드의 제조 방법을 제공한다. 본 발명의 항체는 당해기술에 공지된 절차에 의해 제조될 수 있다. 폴리펩타이드는 항체의 단백분해 또는 다른 분해에 의해, 상기에서 기재된 바와 같이 재조합 방법 (즉, 단일 또는 융합 폴리펩타이드)에 의해 또는 화학 합성에 의해 생산될 수 있다. 항체의 폴리펩타이드, 특히 더 짧은 폴리펩타이드 최대 약 50 아미노산은 화학 합성에 의해 편리하게 제조된다. 화학 합성의 방법은 당해기술에 공지되어 있고 그리고 상업적으로 이용가능하다. 예를 들면, 항체는 고체 상 방법을 사용하는 자동화된 폴리펩타이드 합성기에 의해 생산될 수 있다. 참조 또한, 미국 특허 번호 5,807,715; 4,816,567; 및 6,331,415.

[0278] 또 다른 대안에서, 항체는 당해기술에 공지되어 있는 절차를 이용하여 재조합적으로 제조될 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 서열식별번호: 9 및 서열식별번호: 10에서 보여준 항체 G1의 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역을 암호화하는 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 서열식별번호: 9 및 서열식별번호: 10에서 보여준 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드는 발현 또는 전파를 위해 하나 이상의 벡터에 클로닝된다. 관심 항체를 암호화하는 서열은 숙주세포내 벡터에서 유지될 수 있고 그리고 숙주세포는 그 다음 미래의 사용을 위해 팽창 및 냉동될 수 있다. 벡터 (발현 벡터 포함) 및 숙주세포는 본원에 추가로 기재된다.

[0279] 일부 구현예에서, 본 발명은 또한 본 발명의 항체의 단일 사슬 가변 영역 단편 ("scFv"), 예컨대 G1을 포함한다. 단일 사슬 가변 영역 단편은 짧은 연결 웨პ타이드 이용에 의해 경쇄 및/또는 중쇄 가변 영역을 연결함으로써 제조된다. Bird et al. (1988) *Science* 242:423-426. 연결 웨პ타이드의 예는 한 가변 영역의 카복시 말단과 다른 가변 영역의 아미노 말단 사이에서 대략 3.5 nm를 가교하는 (GGGGS)3 (서열식별번호: 57)이다. 다른 서열의 링커가 설계 및 사용된다. Bird et al. (1988). 링커는 차례로 추가의 기능, 예컨대 약물의 부착 또는 고체 지지체에 대한 부착을 위해 변형될 수 있다. 단일 사슬 변이체는 재조합으로 또는 합성으로 생산될 수 있다. scFv의 합성 생산을 위해, 자동화된 합성기가 사용될 수 있다. scFv의 재조합 생산을 위해, scFv를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 적합한 플라스미드는 적합한 숙주세포, 진핵, 예컨대 효모, 식물, 곤충 또는 포유동물 세포, 또는 원핵, 예컨대 *E. coli*에 도입될 수 있다. 관심 scFv를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 일상적인 조작 예컨대 폴리뉴클레오타이드의 결찰에 의해 제조될 수 있다. 그 결과로 생긴 scFv는 당해기술에 공지된 표준 단백질 정제 기술을 이용하여 단리될 수 있다.

[0280] 단일 사슬 항체의 다른 형태, 예컨대 2중체는 또한 포함된다. 2중체는, VH 및 VL 도메인이 단일 폴리펩타이드 사슬에서 발현되는, 그러나 동일한 사슬에서 2개의 도메인 사이에 짹짓기가 허용하기에 너무 짧은 링커를 사용하고, 그에 의해 도메인이 또 다른 사슬의 상보적 도메인과 짹짓기하게 하고 그리고 2개의 항원 결합 부위를 생성하는 2가, 이중특이적 항체이다 (참고 예를 들면, Holliger, P., et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Poljak, R. J., et al. (1994) *Structure* 2:1121-1123).

[0281] 예를 들면, 적어도 2개의 상이한 항원에 대한 결합 특이성을 갖는 이중특이적 항체, 단클론성 항체는 본원에 개시된 항체를 이용하여 제조될 수 있다. 이중특이적 항체의 제조 방법은 당해기술에 공지되어 있다 (참고, 예를 들면, Suresh et al., 1986, *Methods in Enzymology* 121:210). 전통적으로, 이중특이적 항체의 재조합 생산은 상이한 특이성을 갖는 2개의 중쇄와 2 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍과의 공동발현에 기반되었다 (Millstein and Cuello, 1983, *Nature* 305, 537-539).

[0282] 이중특이적 항체의 제조에 대한 한 접근법에 따라, 원하는 결합 특이성을 갖는 항체 가변 도메인 (항체-항원 결합 부위)은 면역글로불린 불변 도메인 서열에 융합된다. 융합은 바람직하게는 면역글로불린 중쇄 불변 도메인을 갖고, 헌지, CH2 및 CH3 영역의 적어도 일부를 포함한다. 융합의 적어도 하나에 존재하는, 경쇄 결합에 필요한

부위를 함유하는 제1 중쇄 불변 영역 (CH1)을 갖는 것이 바람직하다. 면역글로불린 중쇄 융합 및, 원한다면, 면역글로불린 경쇄를 암호화하는 DNAs는 분리된 발현 벡터에 삽입되고, 그리고 적합한 숙주 유기체에 공동형질감염된다. 이것은 작제물에서 사용된 3개의 폴리펩타이드 사슬의 불균등 비가 최적의 수율을 제공하는 경우 구현 예에서 3개의 폴리펩타이드 단편의 상호 분율 조정에서 큰 가요성을 제공한다. 그러나, 균등 비에서 적어도 2 폴리펩타이드 사슬의 발현이 고수율을 초래하는 경우 또는 비가 특정한 유의성이 없는 경우 한 발현 벡터에서 2 또는 모든 3개의 폴리펩타이드 사슬에 대한 암호화 서열을 삽입하는 것이 가능하다.

[0283] 한 접근법에서, 이중특이적 항체는 한쪽 아암에서 제1 결합 특이성을 갖는 하이브리드 면역글로불린 중쇄, 및 다른 아암에서 하이브리드 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍 (제2 결합 특이성 제공)으로 구성된다. 이중특이적 분자의 단지 이분의 일에서 면역글로불린 경쇄를 갖는 상기 비대칭 구조는 원치않는 면역글로불린 사슬 조합으로부터 원하는 이중특이적 화합물의 분리를 촉진시킨다. 상기 접근법은 1994년 3월 3일 공개된 PCT 공개 번호 WO 94/04690에 기재된다.

[0284] 2개의 공유 연결된 항체를 포함하는 헤테로콘주게이트 항체는 또한 본 발명의 범위 내에 있다. 상기 항체는 원치않는 세포에 대해 면역계 세포를 표적하기 위해 (미국 특허 번호 4,676,980), 그리고 HIV 감염의 치료를 위해 (PCT 출원 공개 번호 WO 91/00360 및 WO 92/200373; EP 03089) 사용되고 있다. 헤테로콘주게이트 항체는 임의의 편리한 가교결합 방법을 이용하여 제조될 수 있다. 적합한 가교결합 제제 및 기술은 당해기술에서 잘 알려지고, 그리고 미국 특허 번호 4,676,980에 기재된다.

[0285] 키메라성 또는 하이브리드 항체는 또한 가교결합 제제가 관련한 것을 포함하는, 합성 단백질 화학의 공지된 방법을 이용하여 시험관내 제조될 수 있다. 예를 들면, 면역독소는 디설파이드 교환 반응을 이용하여 또는 티오에테르 결합을 형성함으로써 제작될 수 있다. 이러한 목적을 위해 적합한 시약의 예는 이미노티올레이트 및 메틸-4-머캅토부티르아미데이트를 포함한다.

[0286] 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 하나 이상의 CDR, 또는 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체로부터 유도된 하나 이상의 CDR를 포함하는 인간화된 항체는 당해분야에서 공지된 임의의 방법을 이용하여 제조될 수 있다. 예를 들면, 4개의 일반적인 단계가 사용되어 단클론성 항체를 인간화할 수 있다.

[0287] 일부 구현예에서, 본 발명은, 중대된 또는 감소된 활성 및/또는 친화도를 갖는 변이체 및 그 특성에 유의미하게 영향을 미치지 않는 기능적으로 동등한 항체를 포함하는, 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체에 대한 변형을 포함한다. 예를 들면, 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 아미노산 서열은 돌연변이되어 CGRP에 대한 원하는 결합 친화도를 갖는 항체를 수득할 수 있다. 폴리펩타이드의 변형은 당해기술에서 일상적인 실시이고 그리고 본원에 상세히 기재될 필요는 없다. 폴리펩타이드의 변형은 예에서 예시된다. 변형된 폴리펩타이드의 예는 아미노산 잔기의 보존적 치환, 기능적 활성을 유의미하게 유해하게 변화시키지 않는 아미노산의 하나 이상의 결실 또는 부가, 또는 화학 유사체의 용도를 갖는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0288] 아미노산 서열 삽입은 1 잔기 내지 100 이상 잔기를 함유하는 폴리펩타이드 길이 범위의 아미노- 및/또는 카복실-말단 융합, 뿐만 아니라 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열간 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체 또는 에피토프 태그에 융합된 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 효소 또는 폴리펩타이드의 항체의 N- 또는 C-말단에 대한 융합을 포함한다.

[0289] 치환 변이체는 제거된 항체 분자에서 적어도 하나의 아미노산 잔기 및 그 대신에 삽입된 상이한 잔기를 갖는다. 치환적 돌연변이생성에 관심이 큰 부위는 초가변 영역을 포함하지만, FR 변경이 또한 고려된다. 보존적 치환은 "보존적 치환"의 제목하에 표 1에서 보여준다. 만일 상기 치환이 생물학적 활성에서 변화를 초래한다면, 표 1에서 "예시적인 치환"으로 명명된, 또는 아미노산 부류를 참조하여 아래 추가로 기재된 바와 같은 더욱 실질적인 변화가 도입될 수 있고 생성물이 스크리닝될 수 있다.

## 표 1

### 아미노산 치환

원래 잔기	보존적 치환	예시적인 치환
Ala (A)	Val	Val; Leu; Ile
Arg (R)	Lys	Lys; Gln; Asn
Asn (N)	Gln	Gln; His; Asp, Lys; Arg
Asp (D)	Glu	Glu; Asn
Cys (C)	Ser	Ser; Ala

Gln (Q)	Asn	Asn; Glu
Glu (E)	Asp	Asp; Gln
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Arg	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신
Leu (L)	Ile	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu	Leu; Phe; Ile
Phe (F)	Tyr	Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Phe	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Leu	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신

- [0291] 항체의 생물학적 특성에서 실질적인 변형은 (a) 예를 들면, 시트 또는 나선 형태로서, 치환의 구역에서 폴리펩타이드 골격의 구조, (b) 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성, 또는 (c) 측쇄의 벌크 유지에서 그 효과가 유의미하게 상이한 치환을 선택함으로써 달성된다. 천연 발생 잔기는 하기 공통의 측쇄 특성에 기반하여 그룹으로 분할된다:
- [0292] (1) 무극성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- [0293] (2) 전하 없는 극성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- [0294] (3) 산성 (음으로 하전됨): Asp, Glu;
- [0295] (4) 염기성 (양으로 하전됨): Lys, Arg;
- [0296] (5) 사슬 방향에 영향을 주는 잔기: Gly, Pro; 및
- [0297] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe, His.
- [0298] 비-보존적 치환은 상기 부류 중 하나의 구성원을 또 다른 부류로 교체함으로써 제조된다.
- [0299] 항체의 적절한 형태 유지에 관여되지 않은 임의의 시스테인 잔기는 또한, 일반적으로 세린과 함께, 치환되어, 분자의 산화적 안정성을 개선할 수 있고 그리고 비정상적인 가교결합을 예방할 수 있다. 반대로, 시스테인 결합(들)은, 특히 항체가 항체 단편 예컨대 Fv 단편인 경우, 항체에 부가되어 그 안정성을 개선할 수 있다.
- [0300] 아미노산 변형은 하나 이상의 아미노산의 변화 또는 변형부터 영역, 예컨대 가변 영역의 완벽한 재설계까지 범위일 수 있다. 가변 영역에서의 변화는 결합 친화도 및/또는 특이성을 변경할 수 있다. 일부 구현예에서, 1 내지 5 이하의 보존적 아미노산 치환은 CDR 도메인 내에서 실시된다. 다른 구현예에서, 1 내지 3 이하의 보존적 아미노산 치환이 CDR 도메인 내에서 실시된다. 또 다른 구현예에서, CDR 도메인은 CDR H3 및/또는 CDR L3이다.
- [0301] 변형은 또한 글리코실화된 및 비글리코실화된 폴리펩타이드, 뿐만 아니라 다른 번역후 변형, 예컨대, 예를 들면, 상이한 당으로 글리코실화, 아세틸화, 및 인산화를 갖는 폴리펩타이드를 포함한다. 항체는 그 불변 영역 내 보존된 위치에서 글리코실화된다 (Jefferis and Lund, 1997, *Chem. Immunol.* 65:111-128; Wright and Morrison, 1997, *TibTECH* 15:26-32). 면역글로불린의 올리고당 측쇄는 단백질의 기능 (Boyd et al., 1996, *Mol. Immunol.* 32:1311-1318; Wittwe and Howard, 1990, *Biochem.* 29:4175-4180) 및, 당단백질의 형태 및 나타낸 3차원 표면에 영향을 줄 수 있는, 당단백질의 부문 사이에서 분자간 상호작용 (Hefferis and Lund, *supra*; Wyss and Wagner, 1996, *Current Opin. Biotech.* 7:409-416)에 영향을 준다. 올리고당은 또한 특이적 인식 구조에 기반된 특정 분자에 대한 주어진 당단백질을 표적하는 작용을 할 수 있다. 항체의 글리코실화는 또한 항체-의존적 세포성 세포독성 (ADCC)에 영향을 준다고 보고되고 있다. 특히,  $\beta(1,4)$ -N-아세틸글루코스아미닐전달효소 III (GnTIII)의 테트라사이클린-조절된 발현을 갖는 CHO 세포, 2등분 GlcNAc의 형성을 촉진하는 글리코실전달효소는 ADCC 활성을 개선한다고 보고되었다 (Umana et al., 1999, *Mature Biotech.* 17:176-180).

- [0302] 항체의 글리코실화는 전형적으로 N-연결 또는 O-연결이다. N-연결은 아스파라긴 잔기의 측쇄에 탄수화물 모이어티의 부착을 지칭한다. 트리펩타이드 서열 아스파라긴-X-세린, 아스파라긴-X-트레오닌, 및 아스파라긴-X-시스테인 (여기에서 X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산이다)은 아스파라긴 측쇄에 탄수화물 모이어티의 효소 부착을 위한 인식 서열이다. 따라서, 폴리펩타이드내 상기 트리펩타이드 서열의 존재는 잠재적인 글리코실화 부위를 생성한다. 비록 5-하이드록시프롤린 또는 5-하이드록실리신이 또한 사용될 수 있어도, O-연결 글리코실화는 하이드록시아미노산, 가장 통상적으로 세린 또는 트레오닌에 당류 N-아세틸갈락토사민, 갈락토오스, 또는 자일로스 중 하나의 부착을 지칭한다.
- [0303] 항체에 글리코실화 부위의 부가는 아미노산 서열을 변경함으로써 편리하게 달성되고 이로써 (N-연결 글리코실화 부위에 대한) 상기-기재된 트리펩타이드 서열 중 하나 이상을 함유한다. 변경은 또한 (O-연결 글리코실화 부위에 대한) 최초 항체의 서열에 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기의 부가, 또는 치환에 의해 실시될 수 있다.
- [0304] 항체의 글리코실화 패턴은 또한 기저 뉴클레오파이드 서열의 변경 없이 변경될 수 있다. 글리코실화는 크게 항체를 발현하기 위해 사용된 숙주세포에 의존한다. 잠재적인 치료제로서, 재조합 당단백질, 예를 들면 항체의 발현을 위해 사용된 세포 유형이 드물게 원상태 세포이기 때문에, 항체의 글리코실화 패턴에서 변화가 기대될 수 있다 (참고, 예를 들면 Hse et al., 1997, *J. Biol. Chem.* 272:9062-9070).
- [0305] 숙주세포의 선택에 더하여, 항체의 재조합 생산 동안 글리코실화에 영향을 주는 인자는 성장 방식, 배지 제형, 배양 밀도, 산소화, pH, 정제 반응식 등을 포함한다. 올리고당 생산에 관여된 특정 효소의 도입 또는 과발현을 포함하는 특정한 숙주 유기체에서 달성된 글리코실화 패턴을 변경하기 위해 다양한 방법이 제안되고 있다 (미국 특허 번호 5,047,335; 5,510,261 및 5,278,299). 글리코실화, 또는 특정 유형의 글리코실화는, 예를 들면 엔도글리코시다아제 H (엔도 H), N-글리코시다아제 F, 엔도글리코시다아제 F1, 엔도글리코시다아제 F2, 엔도글리코시다아제 F3을 이용하여, 당단백질로부터 효소적으로 제거될 수 있다. 또한, 재조합 숙주세포는 특정 유형의 다당류 가공시 불량성이도록 유전적으로 조작될 수 있다. 이들 및 유사한 기술은 당해기술에 공지되어 있다.
- [0306] 변형의 다른 방법은, 비제한적으로, 효소 수단, 산화적 치환 및 칼레이트화를 포함하는, 당해기술에 공지된 커플링 기술 사용을 포함한다. 변형은, 예를 들면, 면역검정용 라벨의 부착을 위해 사용될 수 있다. 변형된 G1 폴리펩타이드는 당해기술에서 확립된 절차를 이용하여 제조될 수 있고 그리고 당해기술에 공지된 표준 검정을 이용하여 스크리닝될 수 있으며, 이들 중 일부는 아래 및 실시예에 기재되어 있다.
- [0307] 본 발명의 일부 구현예에서, 항체는 변형된 불변 영역, 예컨대 면역학적으로 불활성 또는 부분적으로 불활성인, 예를 들면, 보체 매개된 용해를 유발시키지 않는, 항체-의존적 세포 매개된 세포독성 (ADCC)을 촉진시키지 않는, 또는 미세아교를 활성화시키지 않는 불변 영역을 포함하거나; 또는 하기 중 임의의 하나 이상에서 (비변형된 항체에 비교된) 감소된 활성을 갖는다: 보체 매개된 용해 유발, 항체-의존적 세포 매개된 세포독성 (ADCC) 자극, 또는 미세아교 활성화. 불변 영역의 상이한 변형은 효과기 기능의 최적의 수준 및/또는 조합을 달성하기 위해 사용될 수 있다. 참고, 예를 들면, Morgan et al., *Immunology* 86:319-324 (1995); Lund et al., *J. Immunology* 157:4963-9 157:4963-4969 (1996); Idusogie et al., *J. Immunology* 164:4178-4184 (2000); Tao et al., *J. Immunology* 143: 2595-2601 (1989); 및 Jefferis et al., *Immunological Reviews* 163:59-76 (1998). 일부 구현예에서, 불변 영역은 *Eur. J. Immunol.* (1999) 29:2613-2624; PCT 출원 번호 PCT/GB99/01441; 및/또는 영국 특허 출원 번호 9809951.8에 기재된 바와 같이 변형된다. 다른 구현예에서, 항체는 하기 돌연변이를 포함하는 인간 중쇄 IgG2 불변 영역을 포함한다: A330P331 내지 S330S331 (야생형 IgG2 서열을 참조로 아미노산 넘버링). *Eur. J. Immunol.* (1999) 29:2613-2624. 또 다른 구현예에서, 불변 영역은 N-연결 글리코실화에 대하여 비글리코실화된다. 일부 구현예에서, 불변 영역은 글리코실화된 아미노산 잔기 돌연변이 또는 불변 영역에서 N-글리코실화 인식 서열의 일부인 잔기 측집에 의해 N-연결 글리코실화에 대하여 비글리코실화된다. 예를 들면, N-글리코실화 부위 N297은 A, Q, K, 또는 H로 돌연변이될 수 있다. 참고, Tao et al., *J. Immunology* 143: 2595-2601 (1989); 및 Jefferis et al., *Immunological Reviews* 163:59-76 (1998). 일부 구현예에서, 불변 영역은 N-연결 글리코실화에 대하여 비글리코실화된다. 불변 영역은 N-연결 글리코실화에 대하여 효소적으로 (예컨대 효소 PNGase에 의한 탄수화물 제거), 또는 글리코실화 결핍된 숙주세포에서 발현에 의해 비글리코실화될 수 있다.
- [0308] 다른 항체 변형은 1999년 11월 18일 공개된 PCT 공개 번호 WO 99/58572에 기재된 바와 같이 변형되는 항체를 포함한다. 상기 항체는, 표적 분자에서 관련된 결합 도메인에 더하여, 인간 면역글로불린 중쇄의 불변 도메인의 모두 또는 일부와 실질적으로 동형인 아미노산 서열을 갖는 효과기 도메인을 포함한다. 상기 항체는 유의미한 보체 의존적 용해 유발 없이, 또는 표적의 세포-매개된 과정 없이 표적 분자에 결합시킬 수 있다. 일부 구현예

에서, 효과기 도메인은 FcRn 및/또는 Fc γ RIIb를 특이적으로 결합할 수 있다. 이들은 전형적으로 2 이상의 인간 면역글로불린 중쇄 C<sub>μ</sub>2 도메인으로부터 유도된 키메라성 도메인에 기반한다. 이런 식으로 변형된 항체는 종래의 항체 요법에 대한 염증성 및 다른 역반응을 피하기 위해 만성적 항체 요법에서 사용에 특히 적합하다.

[0309] 일부 구현예에서, 본 발명은 친화도 성숙된 구현예를 포함한다. 예를 들면, 친화도 성숙된 항체는 당해기술에 공지된 절차에 의해 생산될 수 있다 (Marks et al., 1992, Bio/Technology, 10:779-783; Barbas et al., 1994, Proc Nat. Acad. Sci., USA 91:3809-3813; Schier et al., 1995, Gene, 169:147-155; Yelton et al., 1995, J. Immunol., 155:1994-2004; Jackson et al., 1995, J. Immunol., 154(7):3310-9; Hawkins et al., 1992, J. Mol. Biol., 226:889-896; 및 WO2004/058184).

[0310] 하기 방법은 항체의 친화도 조정을 위해 그리고 CDR의 특성규명을 위해 사용될 수 있다. 항체의 CDR 특성규명 및/또는 폴리펩타이드, 예컨대 항체의 결합 친화도의 변경 (예컨대 개선)의 한 방식은 "라이브러리 스캐닝 돌연변이생성"로 지칭된다. 일반적으로, 라이브러리 스캐닝 돌연변이생성은 하기와 같이 작용한다. CDR에서 하나 이상의 아미노산 위치는 기술 인식된 방법을 이용한 2 이상의 (예컨대 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20) 아미노산으로 대체된다. 이것은 클론의 작은 라이브러리를 발생하고 (일부 구현예에서, 분석되는 모든 아미노산 위치에 대하여 하나), 각각은 2 이상의 구성원의 복합성을 갖는다 (만일 2 이상의 아미노산이 모든 위치에서 치환되면). 일반적으로, 라이브러리는 또한 원상태 (비치환된) 아미노산을 포함하는 클론을 포함한다. 각각의 라이브러리로부터 소수의 클론, 예를 들면, 약 20-80 클론 (라이브러리의 복합성에 의존)은 표적 폴리펩타이드 (또는 다른 결합 표적)에 대한 결합 친화도를 위해 스크리닝되고, 그리고 증가된, 동일한, 감소된 또는 없는 결합의 후보가 확인된다. 결합 친화도 결정 방법은 당해기술에 공지된다. 약 2-배 이상의 결합 친화도에서 차이를 검출하는, 비아코어 표면 플라즈몬 공명 분석을 이용하여 결합 친화도는 결정될 수 있다. 비아코어는 개시 항체가 이미 상대적으로 높은 친화도, 예를 들면 약 10 nM 이하의 K<sub>D</sub>로 결합하는 경우 특히 유용하다. 비아코어 표면 플라즈몬 공명을 이용한 스크리닝은 본원에서 실시예에 기재된다.

[0311] 결합 친화도는 Kinexa Biocensor, 섬광 근접 검정, ELISA, ORIGEN 면역검정 (IGEN), 형광 켄칭, 형광 이동, 및/또는 효모 디스플레이를 이용하여 결정될 수 있다. 결합 친화도는 또한 적합한 생물학적 검정을 이용하여 스크리닝될 수 있다.

[0312] 일부 구현예에서, CDR에서 모든 아미노산 위치는 기술 인식된 돌연변이생성 방법을 이용하여 모든 20 천연 아미노산으로 (일부 구현예에서, 하나씩) 대체된다 (이들 중 일부는 본원에 기재된다). 이것은 클론의 작은 라이브러리를 발생하고 (일부 구현예에서, 분석되는 모든 아미노산 위치에 대하여 하나), 각각은 20 이상의 구성원의 복합성을 갖는다 (만일 20 이상의 아미노산이 모든 위치에서 치환되면).

[0313] 일부 구현예에서, 스크리닝되는 라이브러리는 동일한 CDR 또는 2 이상의 CDR내일 수 있는 2 이상의 위치에서 치환을 포함한다. 따라서, 라이브러리는 1 CDR내 2 이상의 위치에서 치환을 포함할 수 있다. 라이브러리는 2 이상의 CDR내 2 이상의 위치에서 치환을 포함할 수 있다. 라이브러리는 3, 4, 5, 또는 더 많은 위치에서 치환을 포함할 수 있고, 상기 위치는 2, 3, 4, 5 또는 6 CDR에서 발견된다. 치환은 낮은 반복 코돈을 이용하여 제조될 수 있다. 참고, 예를 들면, Balint et al., (1993) Gene 137(1):109-18)의 표 2.

[0314] CDR은 CDRH3 및/또는 CDRL3일 수 있다. CDR은 CDRL1, CDRL2, CDRL3, CDRH1, CDRH2, 및/또는 CDRH3 중 하나 이상일 수 있다. CDR은 카밧 CDR, 초티아 CDR, 또는 확장된 CDR일 수 있다.

[0315] 개선된 결합을 갖는 후보는 서열분석될 수 있어, 그에 의해 개선된 친화도 (또한 "개선된" 치환으로 지칭됨)를 초래하는 CDR 치환 돌연변이체를 확인한다. 결합하는 후보는 또한 서열분석될 수 있어, 그에 의해 결합을 보유하는 CDR 치환을 확인한다.

[0316] 스크리닝의 다중 차례가 수행될 수 있다. 예를 들면, 개선된 결합을 갖는 (각각 하나 이상의 CDR의 하나 이상의 위치에서 아미노산 치환 포함) 후보는 또한 각각의 개선된 CDR 위치 (즉, 치환 돌연변이체가 개선된 결합을 보이는 CDR에서 아미노산 위치)에서 적어도 최초 및 치환된 아미노산을 함유하는 제2 라이브러리의 설계에 유용하다. 상기 라이브러리의 제조, 및 스크리닝 또는 선택은 추가로 아래 논의된다.

[0317] 개선된 결합, 동일한 결합, 감소된 결합 또는 없는 결합을 갖는 클론의 빈도가 또한 항체-항원 복합체의 안정성을 위하여 각각의 아미노산 위치의 중요성에 관한 정보를 제공하는 한, 라이브러리 스캐닝 돌연변이생성은 또한 CDR 특성규명을 위한 수단을 제공한다. 예를 들면, CDR의 위치가 모든 20 아미노산에 대해 변화된 경우 결합을 보유하면, 그 위치는 항원 결합에 필요할 것 같지 않은 위치로서 확인된다. 반대로, CDR의 위치가 치환의 단지

작은 백분율로 결합을 보유하면, 그 위치는 CDR 기능에 중요한 위치로서 확인된다. 따라서, 라이브러리 스캐닝 돌연변이 생성 방법은 (모든 20 아미노산 포함) 많은 상이한 아미노산으로 변화될 수 있는 CDR에서의 위치, 및 변화될 수 없거나 또는 단지 적은 아미노산으로 변화될 수 있는 CDR에서의 위치에 관한 정보를 발생한다.

[0318] 개선된 친화도를 갖는 후보는 개선된 아미노산, 그 위치에서 최초 아미노산을 포함하는 제2 라이브러리에서 조합될 수 있고, 그리고 추가로 원하는 스크리닝 또는 선택 방법을 이용하여 원하는, 또는 허용된 라이브러리의 복합성에 의존하여, 그 위치에서 추가의 치환을 포함할 수 있다. 또한, 원한다면, 인접한 아미노산 위치는 적어도 2 이상의 아미노산으로 무작위화될 수 있다. 인접한 아미노산의 무작위화는 돌연변이체 CDR에서 추가의 형태적 가교성을 허용할 수 있고, 이는 차례로 다수의 개선 돌연변이의 도입을 허용 또는 촉진할 수 있다. 라이브러리는 또한 스크리닝의 제1 차례에서 개선된 친화도를 보여주지 않았던 위치에서 치환을 포함할 수 있다.

[0319] 제2 라이브러리는, 비아코어 표면 플라즈몬 공명 분석을 이용한 스크리닝, 그리고 파아지 디스플레이, 효모 디스플레이, 및 리보솜 디스플레이를 포함하는, 선택을 위한 당해분야에 공지된 임의의 방법을 이용한 선택을 포함하는, 당해분야에 공지된 임의의 방법을 이용하여 개선된 및/또는 변경된 결합 친화도를 갖는 라이브러리 구성원을 위하여 스크리닝 또는 선택된다.

[0320] 일부 구현예에서, 본 발명은 또한 본 발명의 항체 (예컨대 G1) 또는 폴리펩타이드로부터 하나 이상의 단편 또는 영역을 포함하는 융합 단백질을 포함한다. 일 구현예에서, 서열식별번호:2 (도 5)에서 보여준 가변 경쇄 영역의 적어도 10 인접 아미노산 및/또는 서열식별번호:1 (도 5)에서 보여준 가변 중쇄 영역의 적어도 10 아미노산을 포함하는 융합 폴리펩타이드가 제공된다. 다른 구현예에서, 서열식별번호:2 (도 5)에서 보여준 가변 경쇄 영역의 적어도 약 10, 적어도 약 15, 적어도 약 20, 적어도 약 25, 또는 적어도 약 30 인접 아미노산 및/또는 서열식별번호:1 (도 5)에서 보여준 가변 중쇄 영역의 적어도 약 10, 적어도 약 15, 적어도 약 20, 적어도 약 25, 또는 적어도 약 30 인접 아미노산을 포함하는 융합 폴리펩타이드가 제공된다. 또 다른 구현예에서, 융합 폴리펩타이드는, 도 5의 서열식별번호:2 및 서열식별번호:1에서 보여준 바와 같이, G1의 경쇄 가변 영역 및/또는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 융합 폴리펩타이드는 G1의 하나 이상의 CDR(들)을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 융합 폴리펩타이드는 항체 G1의 CDR H3 및/또는 CDR L3을 포함한다. 본 발명의 목적을 위해, G1 융합 단백질은 원상태 분자에서 부착되지 않은 하나 이상의 G1 항체 및 또 다른 아미노산 서열, 예를 들면, 또 다른 영역으로부터 이형 서열 또는 동형 서열을 포함한다. 예시적인 이형 서열은, 비제한적으로 "태그" 예컨대 FLAG 태그 또는 6His 태그 (서열식별번호: 56)를 포함한다. 태그는 당해기술에 공지되어 있다.

[0321] G1 융합 폴리펩타이드는 당해분야에서 공지된 방법, 예를 들면, 합성으로 또는 재조합으로으로 생성될 수 있다. 전형적으로, 본 발명의 G1 융합 단백질은, 비록 이들이 또한, 예를 들면, 화학 합성을 포함하는, 당해기술에 공지된 다른 수단에 의해 제조될 수 있어도, 본원에 기재된 재조합 방법을 이용하여 이들을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 제조, 발현에 의해 제조된다.

[0322] 일부 측면에서, 본 발명은 또한 고체 지지체 (예컨대 바이오텐 또는 아비딘)에 대해 커플링을 촉진시키는 제제에 접합된 (예를 들면, 연결된) G1으로부터 유도된 항체 또는 폴리펩타이드를 포함하는 조성물을 제공한다. 간단히, 일반적으로 이들 방법이 본원에 기재된 임의의 CGRP 결합 구현예에 적용하는 조건으로 G1 또는 항체가 참조될 수 있다. 콘주게이션은 일반적으로 본원에 기재된 바와 같이 이들 성분 연결을 지칭한다. 연결 (적어도 투여를 위한 인접 회합에서 일반적으로 이들 성분의 고정인)은 임의의 다수 방식으로 달성될 수 있다. 예를 들면, 제제와 항체 사이의 직접적인 반응은 각각 다른 것과 반응할 수 있는 치환체를 보유하는 경우 가능하다. 예를 들면, 한쪽에 친핵성 기, 예컨대 아미노 또는 설프하이드릴기는 다른 쪽에 카보닐-함유기, 예컨대 무수물 또는 산 할라이드와, 또는 양호한 이탈기 (예를 들면, 할라이드)를 함유하는 알킬기와 반응될 수 있다.

[0323] 항체 또는 폴리펩타이드는 라벨링 제제 (대안적으로 "라벨"로 지칭됨) 예컨대 당해기술에 공지된 형광성 분자, 방사성 분자 또는 임의의 다른 라벨에 연결될 수 있다. (직접적으로 또는 간접적으로) 신호를 일반적으로 제공하는 라벨은 당해기술에 공지된다.

[0324] 일부 구현예에서, 본 발명은 또한 항체 G1, 및/또는 본원에 기재된 임의의 또는 모든 항체 또는 폴리펩타이드를 포함하는 조성물 (약제학적 조성물 포함) 및 키트를 제공한다.

[0325] 일부 구현예에서, 본 발명은 또한 본 발명의 항체 및 폴리펩타이드 (도 5에서 보여준 경쇄 및 중쇄 가변 영역의 폴리펩타이드 서열을 포함하는 항체 포함)를 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오타이드, 및 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터 및 숙주세포를 제공한다.

[0326] 일부 구현예에서, 본 발명은 임의의 하기를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드 (또

는 조성물, 약제학적 조성물 포함)를 제공한다: (a) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체; (b) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 단편 또는 영역; (c) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 경쇄; (d) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 중쇄; (e) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 경쇄 및/또는 중쇄로부터 하나 이상의 가변 영역(들); (f) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 하나 이상의 CDR(들) (1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR); (g) 항체 G1의 중쇄로부터 CDR H3; (h) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 경쇄로부터 CDR L3; (i) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 경쇄로부터 3개의 CDR; (j) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의 중쇄로부터 3개의 CDR; (k) 표 6에서 보여준 항체 G1 또는 그 변이체의, 경쇄로부터 3개의 CDR 및 중쇄로부터 3개의 CDR; 및 (1) (b) 내지 (k) 중 임의의 하나를 포함하는 항체. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 서열식별번호: 9 및 서열식별번호: 10에서 보여준 폴리뉴클레오타이드(들)의 하나 또는 둘 모두를 포함한다.

[0327] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 항체 (항체 단편 포함) 및 폴리펩타이드, 예컨대 손상된 효과기 기능을 갖는 항체 및 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 폴리뉴클레오타이드는 당해기술에 공지된 절차에 의해 제조될 수 있다.

[0328] 또 다른 측면에서, 본 발명은 임의의 본 발명의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 조성물 (예컨대 약제학적 조성물)을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 조성물은 본원에 기재된 바와 같이 G1 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 발현 벡터를 포함한다. 다른 구현예에서, 본 조성물은 본원에 기재된 임의의 항체 또는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 발현 벡터를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 조성물은 서열식별번호:9 및 서열식별번호:10에서 보여준 폴리뉴클레오타이드의 하나 또는 둘 모두를 포함한다. 발현 벡터, 및 폴리뉴클레오타이드 조성물의 투여는 추가로 본원에 기재된다.

[0329] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 폴리뉴클레오타이드 제조 방법을 제공한다.

[0330] 임의의 상기 서열에 상보적인 폴리뉴클레오타이드는 또한 본 발명에 의해 포함된다. 폴리뉴클레오타이드는 단일 가닥 (암호화 또는 안티센스) 또는 이중-가닥일 수 있고, 그리고 DNA (게놈, cDNA 또는 합성) 또는 RNA 분자일 수 있다. RNA 분자는 일대일 방식으로 DNA 분자에 상응하고 인트론을 함유하는 hnRNA 분자, 및 인트론을 함유하지 않는 mRNA 분자를 포함한다. 추가의 암호화 또는 비-암호화 서열은 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 내에 존재할 수 있지만 그럴 필요는 없고, 그리고 폴리뉴클레오타이드는 다른 문자 및/또는 지지체 물질에 연결될 수 있지만 그럴 필요는 없다.

[0331] 폴리뉴클레오타이드는 천연 서열 (즉, 항체 또는 그 부분을 암호화하는 내인성 서열)을 포함할 수 있거나 또는 상기 서열의 변이체를 포함할 수 있다. 폴리뉴클레오타이드 변이체는 하나 이상의 치환, 부가, 결실 및/또는 삽입을 함유하여 이로써 암호화된 폴리펩타이드의 면역반응성을 원상태 면역반응성 분자에 비해 감소되지 않는다. 암호화된 폴리펩타이드의 면역반응성에 관한 효과는 일반적으로 본원에 기재된 바와 같이 평가될 수 있다. 변이체는 바람직하게는 원상태 항체 또는 그 부분을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 약 70% 동일성, 더 바람직하게는 적어도 약 80% 동일성 및 가장 바람직하게는 적어도 약 90% 동일성을 발휘한다.

[0332] 만일 2개의 서열에서 뉴클레오타이드 또는 아미노산의 서열이 하기 기재된 바와 같이 최대 대응성으로 정렬된 경우 동일하면 2개의 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 서열은 "동일"하다고 지칭된다. 2개의 서열 사이의 비교는 전형적으로 서열 유사성의 국소 영역을 확인 및 비교하기 위해 비교 윈도우에 걸쳐 서열을 비교함으로써 수행된다. 본원에서 사용된 바와 같이 "비교 윈도우"는 적어도 약 20 인접 위치, 보통 30 내지 약 75, 40 내지 약 50의 분절을 지칭하고, 여기에서 서열은 2개의 서열이 최적으로 정렬된 이후 인접 위치의 동일한 수의 참조 서열과 비교될 수 있다.

[0333] 비교용 서열의 최적의 정렬은 디폴트 파라미터를 이용하여 생물정보학 소프트웨어 (DNASTAR, Inc., Madison, WI)의 라세르겐 스위트에서 메갈린 프로그램을 이용하여 수행될 수 있다. 상기 프로그램은 하기 참조문헌에 기재된 몇 개의 정렬 반응식을 구현한다: Dayhoff, M.O. (1978) A model of evolutionary change in proteins - Matrices for detecting distant relationships. In Dayhoff, M.O. (ed.) Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, Washington DC Vol. 5, Suppl. 3, pp. 345-358; Hein J., 1990, Unified Approach to Alignment and Phylogenies pp. 626-645 Methods in Enzymology vol. 183, Academic Press, Inc., San Diego, CA; Higgins, D.G. and Sharp, P.M., 1989, CABIOS 5:151-153; Myers, E.W. and Muller W., 1988, CABIOS 4:11-17; Robinson, E.D., 1971, Comb. Theor. 11:105; Santou, N., Nes, M., 1987, Mol. Biol. Evol. 4:406-425; Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R., 1973, Numerical Taxonomy the Principles and Practice of Numerical Taxonomy, Freeman Press, San Francisco, CA; Wilbur, W.J. and

Lipman, D.J., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:726-730.

[0334] 바람직하게는, "서열 동일성의 백분율"은 적어도 20 위치의 비교의 원도우에 걸쳐 2개의 최적으로 정렬된 서열을 비교함으로써 결정되고, 여기서 비교 원도우에서 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 서열의 상기 부분은, 2개의 서열의 최적의 정렬을 위하여 (부가 또는 결실을 포함하지 않는) 참조 서열과 비교시, 20 퍼센트 이하, 보통 5 내지 15 퍼센트, 또는 10 내지 12 퍼센트의 부가 또는 결실 (즉 캡)을 포함할 수 있다. 백분율은, 동일한 핵산 염기 또는 아미노산 잔기가 매칭된 위치의 수를 수득하기 위해 양쪽 서열에서 발생하는 위치의 수를 결정하고, 매칭된 위치의 수를 참조 서열에서 위치의 총 수 (즉 원도우 크기)로 나누고 그리고 그 결과를 100 곱하여 서열 동일성의 백분율을 수득하도록 계산된다.

[0335] 변이체는 또한, 또는 대안적으로, 원상태 유전자, 또는 그 부분 또는 보체에 실질적으로 동형일 수 있다. 상기 폴리뉴클레오타이드 변이체는 원상태 항체를 암호화하는 천연 발생 DNA 서열 (또는 상보적 서열)에 대해 중간 정도로 염격한 조건하에서 하이브리드화할 수 있다.

[0336] 적합한 "중간 정도로 염격한 조건"은 5 X SSC, 0.5% SDS, 1.0 mM EDTA (pH 8.0)의 용액에서 예비세정; 50°C-65°C에서, 5 X SSC, 밤새 하이브리드화; 그 다음 0.1% SDS를 함유하는 각각의 2X, 0.5X 및 0.2X SSC로 65°C에서 20 분 동안 2회 세정을 포함한다.

[0337] 본원에서 사용된 바와 같이, "크게 염격한 조건" 또는 "높은 염중 조건"은 하기인 것이다: (1) 세정용 낮은 이온 강도 및 고온 사용, 예를 들면 50 °C에서 0.015 M 염화나트륨/0.0015 M 시트르산나트륨/0.1% 나트륨 도데실 설페이트; (2) 하이브리드화 동안 변성제, 예컨대 포름아미드, 예를 들면, pH 6.5에서 0.1% 소 혈청 알부민 /0.1% 피콜/0.1% 폴리비닐비닐피롤리돈/50mM 나트륨 인산염 베피와 42 °C에서 750 mM 염화나트륨, 75 mM 시트르산나트륨을 갖는 50% (v/v) 포름아미드 사용; 또는 (3) 42 °C에서 50% 포름아미드, 5 x SSC (0.75 M NaCl, 0.075 M 시트르산나트륨), 50 mM 나트륨 포스페이트 (pH 6.8), 0.1% 나트륨 파이로포스페이트, 5 x 텐하르트 용액, 초음파처리된 연어 정자 DNA (50 µg/ml), 0.1% SDS, 및 10% 텍스트란 설페이트 사용과, 42 °C에서의 0.2 x SSC (염화나트륨/시트르산나트륨) 및 50% 포름아미드로 55 °C에서 세정, 그 다음 55 °C에서 EDTA를 함유하는 0.1 x SSC로 이루어진 높은-염중 세정. 숙련가는 인자 예컨대 프로브 길이 등을 축적하기 위해 필요에 따라 온도, 이온 강도 등을 조정하는 방법을 인식할 것이다.

[0338] 유전자 암호의 축퇴의 결과로서, 본원에 기재된 바와 같이 폴리펩타이드를 암호화하는 많은 뉴클레오타이드 서열이 있다는 것이 당해분야의 숙련가에 의해 인정될 것이다. 상기 폴리뉴클레오타이드의 일부는 임의의 원상태 유전자의 뉴클레오타이드 서열의 최소 동형을 보유한다. 그럼에도 불구하고, 코돈 용법에서 차이로 인하여 다양한 폴리뉴클레오타이드는 본 발명에 의해 특이적으로 고려된다. 게다가, 본원에서 제공된 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 유전자의 대립유전자는 본 발명의 범위 내이다. 대립유전자는 뉴클레오타이드의 하나 이상의 돌연변이, 예컨대 결실, 부가 및/또는 치환의 결과로서 변경되는 내인성 유전자는 수득한 mRNA 및 단백질은 변경된 구조 또는 기능을 가질 수 있지만, 그럴 필요는 없다. 대립유전자는 표준 기술 (예컨대 하이브리드화, 증폭 및/또는 데이터베이스 서열 비교)을 이용하여 확인될 수 있다.

[0339] 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 화학 합성, 재조합 방법, 또는 PCR을 이용하여 수득될 수 있다. 화학 폴리뉴클레오타이드 합성의 방법은 당해기술에서 잘 알려지고 본원에 상세히 기재될 필요는 없다. 당해분야의 숙련가는 원하는 DNA 서열을 생산하기 위해 본원에 제공된 서열 및 상업적 DNA 합성기를 사용할 수 있다.

[0340] 재조합 방법을 사용하여 폴리뉴클레오타이드를 제조하기 위해, 원하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드는 적합한 벡터에 삽입될 수 있고, 그리고 본원에서 추가 논의된 바와 같이, 벡터는 차례로 복제 및 증폭을 위해 적합한 숙주세포에 도입될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 당해기술에 공지된 임의의 수단에 의해 숙주세포에 삽입될 수 있다. 세포는 직접적인 흡수, 세포내이입, 형질감염, F-싹짓기 또는 전기천공에 의해 외인성 폴리뉴클레오타이드를 도입함으로써 형질전환된다. 일단 도입되면, 외인성 폴리뉴클레오타이드는 비-통합된 벡터 (예컨대 플라스미드)로서 세포내에 유지될 수 있거나 또는 숙주세포 계놈에 통합될 수 있다. 상기 증폭된 폴리뉴클레오타이드는 당해기술내에 잘 알려진 방법에 의해 숙주세포로부터 단리될 수 있다. 참고, 예를 들면, Sambrook et al. (1989).

[0341] 대안적으로, PCR은 DNA 서열의 재생산을 허용한다. PCR 기술은 당해기술에서 잘 알려지고 그리고 미국 특허 번호 4,683,195, 4,800,159, 4,754,065 및 4,683,202, 뿐만 아니라 PCR: The Polymerase Chain Reaction, Mullis et al. eds., Birkhauser Press, Boston (1994)에 기재된다.

[0342] RNA는 적절한 벡터에서 단리된 DNA 이용 및 적합한 숙주세포에 이의 삽입에 의해 수득될 수 있다. 세포가 복제

하고 DNA가 RNA로 전사되는 경우, RNA는, 예를 들면, Sambrook et al., (1989)에서 제시된 바와 같이, 당해분야의 숙련가에게 잘 알려진 방법을 이용하여 단리될 수 있다.

[0343] 적합한 클로닝 벡터는 표준 기술에 따라 제작될 수 있거나, 또는 당해기술에서 이용가능한 다수의 클로닝 벡터로부터 선택될 수 있다. 선택된 클로닝 벡터가 사용되도록 의도된 숙주세포에 따라 다양할 수 있어도, 유용한 클로닝 벡터는 일반적으로 자가-복제하는 능력을 가질 것이고, 특정한 제한 엔도뉴클레아제용 단일 표적을 소유할 수 있고, 및/또는 벡터를 함유하는 클론 선택에서 사용될 수 있는 마커용 유전자를 담지할 수 있다. 적합한 예는 플라스미드 및 박테리아 바이러스, 예를 들면, pUC18, pUC19, Bluescript (예를 들면, pBS SK+) 및 그 유도체, mp18, mp19, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, 파아지 DNAs, 및 셔틀 벡터 예컨대 pSA3 및 pAT28을 포함한다. 상기 및 많은 다른 클로닝 벡터는 상업적 판매인 예컨대 BioRad, Strategene, 및 Invitrogen으로부터 이용가능하다.

[0344] 발현 벡터는 일반적으로 본 발명의 임의의 다양한 측면에 따라 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 복제가능 폴리뉴클레오타이드 작제물이다. 발현 벡터가 염색체 DNA의 에피솜으로서 또는 일체부로서 숙주세포에서 복제가능이어야 함이 암시된다. 적합한 발현 벡터는, 아데노바이러스, 아데노-관련된 바이러스, 레트로바이러스, 코스미드, 및 PCT 공개 번호 WO 87/04462에 개시된 발현 벡터(들)를 포함하는, 비제한적으로 플라스미드, 바이러스 벡터를 포함한다. 벡터 성분은 일반적으로 하기 중 하나 이상을 비제한적으로 포함할 수 있다: 신호 서열; 복제 기점; 하나 이상의 마커 유전자; 적합한 전사 제어 요소 (예컨대 프로모터, 인핸서 및 종결자). 발현 (즉, 번역)을 위해, 하나 이상의 번역 제어 요소, 예컨대 리보솜 결합 부위, 번역 시작 부위, 및 정지 코돈은 또한 보통 필요하다.

[0345] 관심 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 벡터는, 전기천공, 염화칼슘 사용 형질감염, 염화루비듐, 인산칼슘, DEAE-덱스트란, 또는 다른 물질; 미세투사물 폭격; 리포액션; 및 감염 (예를 들면, 벡터가 감염원 예컨대 우두바이러스임)을 포함하는, 임의의 수의 적절한 수단에 의해 숙주세포에 도입될 수 있다. 벡터 또는 폴리뉴클레오타이드 도입의 선택은 종종 숙주세포의 특징에 의존할 것이다.

[0346] 일부 측면에서, 본 발명은 또한 본원에 기재된 임의의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 숙주세포를 제공한다. 이 형 DNAs를 과발현할 수 있는 임의의 숙주세포는 관심 항체, 폴리펩타이드 또는 단백질을 암호화하는 유전자를 단리시킬 목적으로 사용될 수 있다. 포유동물 숙주세포의 비-제한적인 예는 비제한적으로 COS, HeLa, 및 CHO 세포를 포함한다. 참조 또한 PCT 공개 번호 WO 87/04462. 적합한 비-포유동물 숙주세포는 원핵생물 (예컨대 E. 콜리 또는 B. 셔브틸리스) 및 효모 (예컨대 S. 세레비사에, S. 품베; 또는 K. 라티스)를 포함한다. 바람직하게는, 숙주세포는, 존재한다면, 숙주세포에서 관심 단백질 또는 상응하는 내인성 항체의 것보다 약 5 배 높은, 더 바람직하게는 10 배 높은, 더욱더 바람직하게는 20 배 높은 수준에서 cDNAs를 발현한다. A91-40에 특이적 결합을 위한 숙주세포 스크리닝은 면역검정 또는 FACS에 의해 영향받는다. 관심 항체 또는 단백질을 과발현시키는 세포는 확인될 수 있다.

#### D. 조성물

[0348] 일부 구현예에서, 본 발명의 방법에서 사용된 조성물은 유효량의 항체 (예를 들면, 항-CGRP 길항체 항체, CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체) 또는 본원에 기재된 항체 유도된 폴리펩타이드를 포함한다. 상기 조성물의 예, 뿐만 아니라 제형화 방법은 초기 색션 및 아래 또한 기재된다. 일부 구현예에서, 조성물은 추가로 CGRP 길항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 조성물은 CGRP 경로를 조정하는 하나 이상의 단클론성 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 조성물은 하나 이상의 항-CGRP 길항체 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항체 항체는 인간 CGRP를 인식한다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항체 항체는 인간화된다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항체 항체는 원치않는 또는 바람직하지 않은 면역 반응, 예컨대 항체-매개된 용해 또는 ADCC를 유발하지 않는 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항체 항체는 항체 G1의 하나 이상의 CDR(들) (예컨대 G1로부터 1, 2, 3, 4, 5, 또는, 일부 구현예에서, 모두 6개의 CDR)를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-CGRP 길항체 항체는 인간이다.

[0349] 조성물이 1 초과 항체 (예를 들면, 1 초과 항-CGRP 길항체 항체 -- CGRP의 상이한 에피토프를 인식하는 항-CGRP 길항체 항체의 혼합물)를 포함할 수 있음이 이해된다. 다른 예시적인 조성물은 동일한 에피토프(들)을 인식하는 1 초과 항-CGRP 길항체 항체, 또는 CGRP의 상이한 에피토프에 결합하는 상이한 종의 항-CGRP 길항체 항체를 포함한다.

[0350] 조성물은 추가로 약제학적으로 허용가능한 담체, 부형제, 또는 안정제를 포함할 수 있다 (Remington: The

Science and practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover). 허용가능한 담체, 부형제, 또는 안정제는 이용된 복용량 및 농도에서 수령체에 비독성이다. 항체의 치료적 제형은 하기를 포함하는 상기 종의 비-제한적인 예로 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 안정제(stabilizes)를 포함할 수 있다: 베퍼 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기 산; 염 예컨대 염화나트륨; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜타놀; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10 잔기 미만) 폴리펩타이드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 폴리머 예컨대 폴리비닐파롤리돈; 아미노산 (예를 들면, 0.1 mM 내지 100 mM, 0.1 mM 내지 1 mM, 0.01 mM 내지 50 mM, 1 mM 내지 50 mM, 1 mM 내지 30 mM, 1 mM 내지 20 mM, 10 mM 내지 25 mM의 농도) 예컨대 글리신, 글루타민, 메티오닌, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 라이신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코오스, 만노스, 또는 텍스트린을 포함하는 다른 탄수화물; 킬레이트제 (예를 들면, 0.001 mg/mL 내지 1 mg/mL, 0.001 mg/mL 내지 1 mg/mL, 0.001 mg/mL 내지 0.1 mg/mL, 0.001 mg/mL 내지 0.01 mg/mL의 농도) 예컨대 EDTA (예를 들면, 디나트륨 EDTA 디히드레이트); 당류 (예를 들면, 1 mg/mL 내지 500 mg/mL, 10 mg/mL 내지 200 mg/mL, 10 mg/mL 내지 100 mg/mL, 50 mg/mL 내지 150 mg/mL의 농도) 예컨대 수크로오스, 만니톨, 트레할로오스 또는 소르비톨; 염 형성 반대 이온 예컨대 나트륨; 금속 착물 (예를 들면 Zn-단백질 복합체); 및/또는 비-이온성 계면활성제 (예를 들면, 0.01 mg/mL 내지 10 mg/mL, 0.01 mg/mL 내지 1 mg/mL, 0.1 mg/mL 내지 1 mg/mL, 0.01 mg/mL 내지 0.5 mg/mL의 농도) 예컨대 TWEEN<sup>TM</sup> (예를 들면, 폴리소르베이트 (예를 들면, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 80)), PLURONICS<sup>TM</sup> 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG). 약제학적으로 허용가능한 부형제는 추가로 본원에 기재된다.

[0351] 항체 (예를 들면, 항-CGRP 길항제 항체) 및 그 조성물은 또한 제제의 유효성을 증진 및/또는 보충시키는 작용을 하는 다른 제제와 함께 사용될 수 있다.

#### E. 키트

[0353] 일 측면에서, 본 발명은 또한 본 방법에서 사용을 위한 키트를 제공한다. 키트는 본원에 기재된 항체 (예를 들면, 항-CGRP 길항제 항체 (예컨대 인간화된 항체)) 또는 본원에 기재된 폴리펩타이드를 포함하는 하나 이상의 용기 및 본원에 기재된 임의의 방법에 따른 사용 설명서를 포함할 수 있다. 일반적으로, 상기 설명서는 본원에 기재된 임의의 방법에 따른 두통 (예컨대 편두통)을 치료, 완화 또는 예방하기 위해 항체의 투여의 설명을 포함한다. 본 키트는 추가로 개체가 두통을 갖는지 또는 개체가 두통을 가질 위험이 있는지 확인에 기반하여 치료에 적합한 개체 선택의 설명을 포함할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 설명서는 두통 (예컨대 편두통)을 가질 위험이 있는 개체에 항체 (예를 들면, 항-CGRP 길항제 항체) 투여의 설명을 포함한다.

[0354] 일부 구현예에서, 항체는 인간화된 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 인간이다. 다른 구현예에서, 항체는 단클론성 항체이다. 또 다른 구현예에서. 일부 구현예에서, 항체는 항체 G1의 하나 이상의 CDR(들) (예컨대 G1로부터 1, 2, 3, 4, 5, 또는, 일부 구현예에서, 모두 6개의 CDR)를 포함한다.

[0355] 항체 (예를 들면, 항-CGRP 길항제 항체)의 사용에 관련한 설명서는 일반적으로 의도된 치료용 복용량, 복용 계획, 및 투여 경로에 관한 정보를 포함한다. 용기는 단위 용량, 벌크 패키지 (예를 들면, 다중-용량 패키지) 또는 하위-단위 용량일 수 있다. 키트에 공급된 설명서는 전형적으로 라벨 또는 포장 삽입물로 서면 설명서 (예를 들면, 키트에 포함된 종이 시트)일 수 있지만, 기계-판독가능한 설명서 (예를 들면, 자성 또는 광 저장 디스크로 전달된 설명서)가 또한 허용가능하다.

[0356] 표지 또는 포장 삽입물은 본 조성물이 두통 (예컨대 편두통) 치료, 완화 및/또는 예방에 사용됨을 표시한다. 설명서는 본원에 기재된 임의의 방법 실시를 위해 제공될 수 있다.

[0357] 본 발명의 키트는 적합한 패키징이다. 적합한 패키징은, 비제한적으로, 바이알, 병, 단지, 가요성 패키징 (예를 들면, 밀봉된 마일러 또는 플라스틱 백) 등을 포함한다. 특정 디바이스, 예컨대 흡입기, 코 투여 디바이스 (예를 들면, 아토마이저) 또는 주입 디바이스 예컨대 미니펌프와 조합으로 사용하기 위한 패키지가 또한 고려된다. 키트는 멸균된 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들면 용기는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 스토퍼를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있다). 용기는 또한 멸균된 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들면 용기는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 스토퍼를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있다). 본 조성물에서 적어도 하나의 활성제는 항-CGRP 길항제 항체 및/또는 CGRP 경로를 조정하는 단클론성 항체이다. 용기는 추가로 제2 약제학

적으로 활성제를 포함할 수 있다.

[0358] 키트는 임의로 추가의 성분 예컨대 버퍼 및 해석 정보를 제공할 수 있다. 정상적으로, 본 키트는 용기 및 라벨 또는 용기에 또는 이와 관련된 포장 삽입물(들)을 포함한다.

[0359] 하기 예는 본 발명을 예시하기 위해 그러나 제한하지 않기 위해 제공된다.

#### 실시예

##### 실시예 1: CGRP에 관련된 단클론성 항체의 발생 및 특성규명

항-CGRP 항체의 발생. 랫트 및 인간 CGRP용 교차종 반응성을 갖는 항-CGRP 항체를 발생하기 위해, 다양한 간격으로 보조제 (발바닥 마다 50  $\mu$ l, 마우스 마다 총 100  $\mu$ l)에서 KLH에 접합된 인간  $\alpha$ -CGRP 또는  $\beta$ -CGRP의 25-100  $\mu$ g으로 마우스를 면역화시켰다. 면역화를 일반적으로 하기 위해 기재된 바와 같이 수행하였다: Geerligs HJ et al., 1989, J. Immunol. Methods 124:95-102; Kenney JS et al., 1989, J. Immunol. Methods 121:157-166; 및 Wicher K et al., 1989, Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 89:128-135. 마우스를 CFA (완벽한 프로인트 보조제)에서 KLH에 접합된 인간  $\alpha$ -CGRP 또는  $\beta$ -CGRP 50  $\mu$ g으로 첫번째로 면역화시켰다. 21 일후, 마우스를 IFA (불완전한 프로인트 보조제)에서 KLH에 접합된 인간  $\beta$ -CGRP (인간  $\alpha$ -CGRP로 첫번째로 면역화된 마우스에 대해) 또는  $\alpha$ -CGRP (인간  $\beta$ -CGRP로 첫번째로 면역화된 마우스에 대해) 25  $\mu$ g으로 두번째로 면역화시켰다. 제2 면역화후 23 일 뒤에, 제3 면역화를 IFA에서 KLH에 접합된 랫트  $\alpha$ -CGRP의 25  $\mu$ g으로 수행하였다. 10 일 뒤에, ELISA를 이용하여 항체 역가를 시험하였다. 제4 면역화를 제3 면역화후 IFA 34 일에 웨브타이드 (랫트  $\alpha$ -CGRP-KLH) 25  $\mu$ g으로 수행하였다. 제4 면역화후 32 일에 100  $\mu$ g 가용성 웨브타이드 (랫트  $\alpha$ -CGRP)로 최종 부스터를 수행하였다.

[0363] 비장세포를 면역화된 마우스로부터 수득하였고 그리고 폴리에틸렌 글리콜 1500으로 10:1의 비율에서 NSO 골수종 세포와 융합시켰다. 20% 말 혈청 및 2-옥살로아세테이트/피루베이트/인슐린 (시그마)을 함유하는 DMEM내 96-웰 플레이트에 하이브리드를 풀레이팅하였고, 그리고 하이포잔틴/아미노프테린/티미딘 선택을 시작하였다. 8 일째에, 20% 말 혈청을 함유하는 100  $\mu$ l의 DMEM을 모든 웰들에 부가하였다. 항체 포착 면역검정을 이용함으로써 하이브리드의 상청액을 스크리닝하였다. 부류-특이적 제2 항체로 항체의 결정을 실시하였다.

[0364] 추가 특성규명을 위해 인간 및 랫트 CGRP에 그 결합에 기반하여 단클론성 항체-생산 세포주의 패널을 선택하였다. 상기 항체 및 특성은 표 2 및 3에서 아래 보여준다.

[0365] 정제 및 Fab 단편 제조. 추가 특성규명을 위해 선택된 단클론성 항체를 단백질 A 친화도 크로마토그래피를 이용한 하이브리도마 배지의 상청액으로부터 정제하였다. 상청액을 pH 8까지 평형화시켰다. 상청액을 그 다음 PBS로 pH 8까지 평형화된 단백질 A 칼럼 MabSelect (Amersham Biosciences # 17-5199-02)에 부하하였다. 칼럼을 5 칼럼 용적의 PBS, pH 8로 세정하였다. 항체를 50 mM 시트레이트-인산염 버퍼, pH 3으로 용출하였다. 용출된 항체를 1M 인산염 버퍼, pH 8로 중화하였다. 정제된 항체를 PBS, pH 7.4로 투석하였다. 젖과 단클론성 항체 표준 곡선을 이용하여, 항체 농도를 SDS-PAGE로 결정하였다.

[0366] 면역순수 Fab 키트 (Pierce # 44885)를 이용하여 전체 항체의 파파인 단백질분해로 Fabs를 제조하였고 그리고 제조자 설명서에 따른 단백질 A 크로마토그래피를 통한 흐름에 의해 정제하였다. (아미노산 분석에 의해 결정된) 공지된 농도의 표준 Fab를 이용하여 ELISA 및/또는 SDS-PAGE 전기영동에 의해, 그리고 10D = 0.6 mg/ml (또는 아미노산 서열에 기반한 이론적 등가)를 이용한 A280에 의해 농도를 결정하였다.

[0367] Fabs의 친화성 결정. 제조 고유 작동 버퍼, HBS-EP (10 mM HEPES pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.005% v/v 폴리소르베이트 P20)을 갖춘 Biacore3000™ 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 시스템 (Biacore, INC, Piscataway NJ)을 이용하여 25°C 또는 37°C에서 항-CGRP 단클론성 항체의 친화도를 결정하였다. SA 칩에서 미리-고정된 스트렙타비딘을 통해 N-말단 바이오티닐화된 CGRP 웨브타이드 (GenScript Corporation, New Jersey or Global Peptide Services, Colorado로부터 주문된 구입) 포착 및 CGRP 표면을 거쳐 적정된 항체 Fab의 결합 동력학 평가에 의해 친화도를 결정하였다. 바이오티닐화된 CGRP를 HBS-EP에서 희석하였고 그리고 0.001 mg/ml 미만의 농도에서 칩 위에 주사하였다. 개별 칩 채널을 거쳐 가변성 유동 시간을 이용하여, 2가지 범위의 항원 밀도를 달성하였다: 상세한 동력학 연구에 대하여 <50 반응 단위 (RU) 및 농도 연구 및 스크리닝에 대하여 약 800 RU. 정제된 Fab 단편의 1  $\mu$ M - 0.1 nM (0.1-10x 추정된  $K_D$ 에서 목표) 범위의 농도에서 2- 또는 3-배 연속 희석액을 전형적으로 1 분 동안 100  $\mu$ L/분으로 주사하였고 그리고 10 분의 해리 시간을 허용하였다. 각각의 결합 사이클 이후, 25% v/v 에탄올에서 25 mM NaOH로 표면을 재생하였고, 이것을 수백 사이클에 걸쳐 용인하였다. BIA평가 프로그램을

이용하여 1:1 랭뛰어 결합 모델 (Karlsson, R. Roos, H. Fagerstam, L. Petersson, B. (1994). Methods Enzymology 6. 99-110)에 데이터를 맞춤으로써 동력학 결합 속도 ( $k_{on}$ ) 및 해리 속도 ( $k_{off}$ )를 동시에 수득하였다. 전면적인 평형 해리 상수 ( $K_D$ ) 또는 "친화도"를 비  $K_D = k_{off}/k_{on}$ 로부터 계산하였다. 젖과 Fab 단편의 친화도를 표 2 및 3에서 보여준다.

[0368] 젖과 항-CGRP 항체의 에피토프 맵핑. 항-CGRP 항체가 인간  $\alpha$ -CGRP에서 결합하는 에피토프를 결정하기 위해, 다양한 CGRP 단편에 대한 Fab 단편의 결합 친화도를 상기에서 기재된 바와 같이 SA 센서 칩에서 N-말단 바이오티닐화된 CGRP 단편 아미노산 19-37 및 아미노산 25-37을 포착함으로써 측정하였다. 도 1은 25°C에서 측정된 그 결합 친화도를 보여준다. 도 1에서 보여준 바와 같이, 항체 4901을 제외한, 모든 항체는 전장 인간  $\alpha$ -CGRP (1-37)에 대한 그 결합 친화도와 유사한 친화도로 인간  $\alpha$ -CGRP 단편 19-37 및 25-37에 결합한다. 주로 오프-레이트의 손실로 인해, 전장 인간  $\alpha$ -CGRP 단편에 결합보다 6배 낮은 친화도로 항체 4901은 인간  $\alpha$ -CGRP 단편 25-37에 결합한다. 데이터는 상기 항-CGRP 항체가 일반적으로 CGRP의 C-말단에 결합함을 표시한다.

[0369] 항-CGRP 항체의 결합에 관여된 인간  $\alpha$ -CGRP에서 아미노산을 추가 특성 규명하기 위해 알라닌 스캐닝을 수행하였다. 단일 알라닌 치환을 갖는 인간  $\alpha$ -CGRP의 상이한 변이체를 웨بت아이드 합성으로 발생하였다. 비아코어 분석에서 사용된 모든 다른 웨بت아이드와 함께 그 아미노산 서열을 표 4에서 보여준다. 상기 변이체에 대한 항-CGRP 항체의 Fab 단편의 친화도를 상기에서 기재된 바와 같이 비아코어를 이용하여 결정하였다. 도 1에서 보여준 바와 같이, 모든 12 항체는 C-말단 에피토프를 표적하고, 아미노산 F37은 가장 결정적인 잔기이다. 알라닌에 대한 F37의 돌연변이는 친화도를 유의미하게 낮추었거나 또는 웨بت아이드에 대한 항-CGRP 항체의 결합을 완전히 녹아웃 시켰다. 다음의 가장 중요한 아미노산 잔기는 G33이지만, 그러나, 단지 높은 친화도 항체 (7E9, 8B6, 10A8, 및 7D11)는 상기 위치에서 알라닌 대체에 의해 영향받았다. 아미노산 잔기 S34는 또한 상기 4개의 높은 친화도 항체의 결합에서 유의미한, 그러나 낮은 역할을 한다.

## 표 2

인간  $\alpha$ -CGRP에 결합하는 항-CGRP 단클론성 항체의 특성 및 그 길항제 활성

항체	25°C에서 인간 $\alpha$ -CGRP에 대한 $K_D$ (nM)	37°C에서 인간 $\alpha$ -CGRP에 대한 $K_D$ (nM)	(cAMP 활성화에 의해 측정된) 25°C에서 그 수용체에 결합하는 인간 $\alpha$ -CGRP 세포 기반 차단	방사성리간드 결합 검정에서 측정된 25°C(실온)에서 $IC_{50}$ (nM 결합 부위).
7E9	1.0	0.9	있음	2.5
8B6	1.1	1.2	있음	4.0
10A8	2.1	3.0	있음	n.d.
7D11	4.4	5.4	있음	n.d.
6H2	9.3	42	있음	12.9
4901	61	139	있음	58
14E10	80	179	있음	n.d.
9B8	85	183	없음	n.d.
13C2	94	379	없음	n.d.
14A9	148	581	없음	n.d.
6D5	210	647	없음	n.d.
1C5	296	652	없음	n.d.

[0371] 주석: 항체 4901은 상업적으로 이용가능하다 (시그마, 생성물 번호 C7113).

[0372] n.d. = 결정되지 않음

## 표 3

[0373]

랫트  $\alpha$ -CGRP에 결합하는 항-CGRP 단클론성 항체의 특성 및 길항제 활성

항체	37°C에서 랫트 $\alpha$ -CGRP에 대한 $K_D$ (nM)	(cAMP 활성화에 의해 측정된) 25°C에서 그 수용체에 결합하는 랫트 $\alpha$ -CGRP 결합의 세포 기반 차단	복제 신경 검정에서 생체 내 차단
4901	3.4	있음	있음
7E9	47	있음	있음
6H2	54	없음	없음
8B6	75	있음	있음
7D11	218	있음	있음
10A8	451	없음	n.d.
9B8	876	없음	n.d.
14E10	922	없음	n.d.
13C2	> 1000	없음	n.d.
14A9	> 1000	없음	n.d.
6D5	> 1000	없음	n.d.
1C5	> 1000	없음	n.d.

[0374] "n.d."는 시험에 대하여 수행되지 않았음을 표시한다.

## 표 4

[0375]

인간  $\alpha$ -CGRP 단편 (서열식별번호:15-40) 및 관련된 웨타이드 (서열식별번호:41-47)의 아미노산 서열. 모든 웨타이드는 서열식별번호:36-40을 제외하고 C-말단 아미드화된다. 불드체 잔기는 점 돌연변이를 표시한다.

CGRP	아미노산 서열	서열목록번호
1-37 (WT)	ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF	15
8-37	VTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF	16
19-37	SGGVVKNNFVPTNVGSKAF	17
P29A (19-37)	SGGVVKNNFVATNVGSKAF	18
K35A (19-37)	SGGVVKNNFVPTNVGSAAF	19
K35E (19-37)	SGGVVKNNFVPTNVGSEAF	20
K35M (19-37)	SGGVVKNNFVPTNVGSMAF	21
K35Q (19-37)	SGGVVKNNFVPTNVGSQAF	22
F37A (19-37)	SGGVVKNNFVPTNVGSKAA	23
25-38A	NNFVPTNVGSKAF	24
25-37	NNFVPTNVGSKAF	25
F27A (25-37)	NNAVPTNVGSKAF	26
V28A (25-37)	NNFAPTNVGSKAF	27
P29A (25-37)	NNFVATNVGSKAF	28
T30A (25-37)	NNFVPANVGSKAF	29
N31A (25-37)	NNFVPTAVGSKAF	30
V32A (25-37)	NNFVPTNAGSKAF	31
G33A (25-37)	NNFVPTNVASKAF	32
S34A (25-37)	NNFVPTNVGAKAF	33
F37A (25-37)	NNFVPTNVGSKAA	34
26-37	NFVPTNVGSKAF	35
19-37-COOH	SGGVVKNNFVPTNVGSKAF	36
19-36-COOH	SGGVVKNNFVPTNVGSKA	37
1-36-COOH	ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKA	38
1-19-COOH	ACDTATCVTHRLAGLLSRS	39
1-13-COOH	ACDTATCVTHRLA	40
랫트 $\alpha$ (1-37)	SCNTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKDNFVPTNVGSEAF	41
랫트 $\alpha$ (19-37)	SGGVVKDNFVPTNVGSEAF	42
인간 $\beta$ (1-37)	ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKSNFVPTNVGSKAF	43
랫트 $\beta$ (1-37)	SCNTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKDNFVPTNVGSKAF	44

인간 칼시토닌 (1-32)	CGNLSTCMLGTYTQDFNKFHTFPQTAIGVGAP	45
인간 아밀린 (1-37)	KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGAILSSTNVGSNTY	46
인간 아드레노메톨린 (1-52)	YRQSMNNFQGLRSFGCRFGTCTVQKLAHQIYQFTDK DKDNVAPRSKISPQGY	47

[0376] 실시예 2: 시험관내 검정을 이용한 항-CGRP 길항제 항체의 스크리닝.

[0377] 세포 기반 cAMP 활성화 검정 및 결합 검정을 이용하여 젖과 항-CGRP 항체를 시험관내 길항제 활성에 대하여 추가로 스크리닝하였다.

[0378] cAMP 검정에 의해 측정된 길항제 활성. 항-CGRP 항체 (최종 농도 1-3000 nM)의 존재 또는 부재하에 5 마이크로리터의 인간 또는 랫트  $\alpha$ -CGRP (최종 농도 50 nM), 또는 랫트  $\alpha$ -CGRP 또는 인간  $\alpha$ -CGRP (최종 농도 0.1 nM-10  $\mu$ M; c-AMP 활성화에 대하여 양성 대조군으로서)를 384-웰 플레이트에 분배하였다 (Nunc, Cat. No. 264657). 자극 베퍼 (20 mM HEPES, pH 7.4, 146 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 및 500  $\mu$ M 3- $\alpha$ 소부틸-1-메틸잔틴 (IBMX))에서 10 마이크로리터의 세포 (만일 인간  $\alpha$ -CGRP가 사용되면 인간 SK-N-MC, 또는 만일 랫트  $\alpha$ -CGRP가 사용되면 ATCC로부터 랫트 L6)를 플레이트의 월들에 부가하였다. 플레이트를 실온에서 30 분 동안 항온처리하였다.

[0379] 항온처리 이후, 제조 설명에 따라 HitHunter™ 효소 단편 상보성 검정 (Applied Biosystems)을 이용하여 cAMP 활성화를 수행하였다. 검정은 2개의 단편-명명된 효소 수용체 (EA) 및 효소 공여체 (ED)로 이루어지는 유전적으로 조작된  $\beta$ -갈락토시다아제 효소에 기반한다. 2개의 단편이 분리된 경우, 효소는 불활성이다. 단편이 함께인 경우 이들은 동시에 재조합하여 상보성화라 칭하는 공정에 의해 활성 효소를 형성할 수 있다. EFC 검정 플랫폼은 cAMP가 항-cAMP에 의해 인식되는 ED-cAMP 웹타이드 콘주케이트를 이용한다. 상기 ED 단편은 EA와 재화합하여 활성 효소를 형성할 수 있다. 검정에서, 항-cAMP 항체는 ED-cAMP 콘주케이트에 결합하기 위해 그리고 효소 형성을 억제하기 위해 최적으로 적정된다. 세포 용해물 샘플에서 cAMP의 수준은 항-cAMP 항체에 대한 결합에 대하여 ED-cAMP 콘주케이트와 경쟁한다. 검정에서 자유 ED 콘주케이트의 양은 cAMP의 농도에 비례한다. 따라서,  $\beta$ -갈락토시다아제 발광성 기질의 텐오버에 의해 정량화되는 활성 효소의 형성에 의해 cAMP는 측정된다. 10  $\mu$ l의 세포용해 베퍼 및 항-cAMP 항체 (1:1 비) 부가 그 다음 실온에서 60 분 동안 항온처리에 의해 cAMP 활성화 검정을 수행하였다. 그 다음 10  $\mu$ l의 ED-cAMP 시약을 각 웰에 부가하였고 실온에서 60 분 동안 항온처리하였다. 항온처리 이후, 20  $\mu$ l의 EA 시약 및 CL 혼합물 (기질 함유) (1:1 비)을 각 웰에 부가하였고 실온에서 1-3 시간 동안 또는 밤새 항온처리하였다. 플레이트를 PMT 기기상의 1 초/웰에서 또는 이미저상의 30 초/위치에서 판독하였다.  $\alpha$ -CGRP에 의해 cAMP의 활성화를 억제하는 항체를 상기 표 2 및 3에서 확인하였다 ("있음"로 불림). 표 2 및 3에서 데이터는 검정에서 길항제 활성을 실증하였던 항체가 일반적으로 높은 친화도를 가짐을 표시한다. 예를 들면, 인간  $\alpha$ -CGRP에 대해 약 80 nM 이하의 (25°C에서 결정된)  $K_D$ 를 갖는 또는 랫트  $\alpha$ -CGRP에 대해 약 47 nM 이하의 (37°C에서 결정된)  $K_D$ 를 갖는 항체가 상기 검정에서 길항제 활성을 보여주었다.

[0380] 방사성리간드 결합 검정. 이전에 기재된 바와 같이 수용체에 결합으로부터 CGRP 차단에서 항-CGRP 항체의  $IC_{50}$ 을 측정하기 위해 결합 검정을 수행하였다. Zimmermann et al., Peptides 16:421-4, 1995; Malley et al., J. Biol. Chem. 277:14294-8, 2002. 총 용적 1 mL내 10 pM <sup>125</sup>I-인간  $\alpha$ -CGRP를 함유하는 항온처리 베퍼 (50 mM 트리스-HCl, pH 7.4, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1% BSA)로 실온에서 90 분 동안 SK-N-MC 세포로부터 막 (25  $\mu$ g)을 항온처리하였다. 저해 농도 ( $IC_{50}$ )를 결정하기 위해, 약 100 배 높은 모액으로부터 항체 또는 비표지된 CGRP (대조군으로서)를 항온처리 베퍼에서 가변 농도로 용해시키고 막 및 10 pM <sup>125</sup>I-인간  $\alpha$ -CGRP로 동시에 항온처리하였다. 0.5% 폴리에틸렌이민으로 차단되는 유리 초극세사 필터 (GF/B, 1  $\mu$ m)를 통한 여과에 의해 항온처리을 종료하였다. 하기 방정식을 이용함으로써 용량 반응 곡선을 작도하였고  $K_i$  값을 결정하였다:  $K_i = IC_{50}/(1+([리간드])/K_D)$ ; 여기에서 SK-N-MC 세포에서 존재하는 바와 같이 CGRP1 수용체에 대한 인간  $\alpha$ -CGRP에 대하여 평형 해리 상수  $K_D = 8$  pM, 및  $B_{max} = 0.025$  pmol/mg 단백질. (IgG 분자에 관하여) 보고된  $IC_{50}$  값을 (2 곱하기에 의해) 결합 부위에 대해 전환하여 이로써 비아코어에 의해 결정된 친화도 ( $K_D$ )와 비교할 수 있었다 (참고 표 2).

[0381] 표 2는 젖과 항체 7E9, 8B6, 6H2 및 4901의  $IC_{50}$ 을 보여준다. 데이터는 항체 친화도가 일반적으로  $IC_{50}$ 에 상관

하고: 높은 친화도 (낮은  $K_D$  값)를 갖는 항체가 방사성리간드 결합 검정에서 낮은  $IC_{50}$ 을 가짐을 표시한다.

**[0382] 실시예 3: 랫트 복재 신경의 자극에 의해 유도된 피부 혈관확장에서 항-CGRP 길항제 항체의 효과**

항-CGRP 항체의 길항제 활성을 시험하기 위해, 랫트 복재 신경의 자극에 의한 피부 혈관확장에서 항체의 효과를 이전에 기재된 랫트 모델을 이용하여 시험하였다. Escott et al., Br. J. Pharmacol. 110:772-776, 1993. 상기 랫트 모델에서, 복재 신경의 전기적 자극은 신경 종말로부터 CGRP의 방출을 유도하여, 피부 혈류에서의 증가를 초래한다. 수컷 스프래그 다우리 랫트 (170-300 g, Charles River Hollister제)의 발 피부내 혈류를 복재 신경 자극 이후 측정하였다. 랫트를 2% 이소플루란으로 마취하에 유지하였다. 복재 신경의 교감성 섬유의 수반되는 자극으로 인한 혈관수축을 최소화하기 위해 브레틸리움 토실레이트 (30 mg/kg, i.v. 투여)를 실험의 초기에 제공하였다. 온도 제어된 가열 패드에 자동온도조절로 연결된 직장 프로브의 사용에 의해 체온을 37°C로 유지하였다. 도 3에서 보여준 실험을 제외하고, 항체, 양성 대조군 (CGRP 8-37), 및 비히클 (PBS, 0.01% Tween 20)을 포함하는 화합물을 오른쪽 대퇴 정맥을 통해 정맥내로 제공하였고, 시험 화합물 및 대조군을 꼬리 정맥을 통해 주사하였고, 그리고 도 2a 및 2b에서 보여준 실험을 위해, 항체 4901 및 7D11을 복강내로 (IP) 주사하였다. 그 짧은 반감기 때문에, 양성 대조군 화합물 CGRP 8-37 (혈관확장 길항제)을 400 nmol/kg (200  $\mu$  l)으로 신경 자극전에 3-5 분 제공하였다. Tan et al., Clin. Sci. 89:656-73, 1995. 항체를 상이한 용량 (1 mg/kg, 2.5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 및 25 mg/kg)으로 제공하였다.

도 2a 및 2b에서 보여준 실험을 위해, 항체 4901 (25 mg/kg), 항체 7D11 (25 mg/kg), 또는 비히클 대조군 (0.01% Tween 20을 갖는 PBS)을 전기 펄스 자극전에 복강내로 (IP) 72 시간 투여하였다. 도 3에서 보여준 실험을 위해, 항체 4901 (1 mg/kg, 2.5 mg/kg, 5 mg/kg, 또는 25 mg/kg) 또는 비히클 대조군 (0.01% Tween 20을 갖는 PBS)을 전기 펄스 자극전에 정맥내로 24 시간 투여하였다. 항체 또는 비히클 대조군 투여 이후, 오른쪽 뒷다리의 복재 신경을 수술로 노출시켰고, 근위로 절단하였고 플라스틱 랩으로 피복하여 건조를 예방하였다. 복재 신경에 의해 신경이 통하게 되는 영역인 뒷발 피부의 중배측 위에 레이저 도플러 프로브를 배치하였다. 혈구 유동으로서 측정된 피부 혈류를 레이저 도플러 유량계로 모니터링하였다. 안정한 기준선 유동 (5% 변화 미만)을 적어도 5 분 동안 확립한 경우, 신경을 백금 양극성 전극 위에 배치하였고 60 펄스 (2 Hz, 10 V, 1 ms, 30 초 동안) 및 그 다음 20분 후에 다시 전기 자극하였다. 전기 펄스 자극에 대한 각각의 유동 반응에 대하여 유동-시간 곡선 (AUC, 시간 변화를 곱한 유동 변화와 동일) 하의 면적으로 피부 혈류에서 누적 변화를 추정하였다. 2개 자극에 대한 혈류 반응의 평균을 뽑았다. 동물을 1 내지 3 시간의 기간 동안 마취하에 유지하였다.

도 2a 및 도 2b에서 보이는 바와 같이, 대조군과 비교로 CGRP 8-37 (400 nmol/kg, i.v. 투여), 항체 4901 (25 mg/kg, ip 투여), 또는 항체 7D11 (25 mg/kg, ip 투여)의 존재에 의해 복재 신경에 전자 펄스 적용으로 자극된 혈류 증가를 저해하였다. CGRP 8-37을 복재 신경 자극전에 3-5 분 투여하였고; 그리고 항체를 복재 신경 자극 전에 72 시간 투여하였다. 도 3에서 보이는 바와 같이, 복재 신경 자극전에 24 h에서 정맥내로 투여된 상이한 용량 (1 mg/kg, 2.5 mg/kg, 5 mg/kg, 및 25 mg/kg)으로 항체 4901의 존재에 의해 복재 신경에 전자 펄스 적용으로 자극된 혈류 증가를 저해하였다.

도 4a 및 4b에서 보이는 실험을 위해, 복재 신경을 항체 투여전에 수술로 노출하였다. 오른쪽 뒷다리의 복재 신경을 수술로 노출하였고, 근위로 절단하였고 플라스틱 랩으로 피복하여 건조를 예방하였다. 복재 신경에 의해 신경이 통하게 되는 영역인 뒷발 피부의 중배측 위에 레이저 도플러 프로브를 배치하였다. 혈구 유동으로서 측정된 피부 혈류를 레이저 도플러 유량계로 모니터링하였다. 브레틸리움 토실레이트 주사 이후 30 내지 45분, 안정한 기준선 유동 (5% 변화 미만)을 적어도 5 분 동안 확립한 경우, 신경을 백금 양극성 전극 위에 배치하였고 (2 Hz, 10 V, 1 ms, 30 초 동안) 및 그 다음 20분 후에 다시 전기 자극하였다. 상기 2개의 자극에 대한 혈류 유동 반응의 평균을 사용하여 전기적 자극에 대한 기준선 반응 (시간 0)을 확립하였다. 항체 4901 (1 mg/kg 또는 10 mg/kg), 항체 7E9 (10 mg/kg), 항체 8B6 (10 mg/kg), 또는 비히클 (0.01% Tween 20을 갖는 PBS)을 그 다음 정맥내로 (i.v.) 투여하였다. 항체 또는 비히클 투여 이후 30 분, 60 분, 90 분, 및 120 분에서 신경을 차후에 자극하였다 (2Hz, 10V, 1 ms, 30 초 동안). 동물을 대략 3 시간의 기간 동안 마취하에 유지하였다. 전기 펄스 자극에 대한 각각의 유동 반응에 대하여 유동-시간 곡선 (AUC, 시간 변화를 곱한 유동 변화와 동일) 하의 면적으로 피부 혈류에서 누적 변화를 추정하였다.

도 4a에서 보이는 바와 같이, 전자 펄스 자극을 항체 투여 이후 60 분, 90 분, 및 120 분에서 적용하는 경우, 복재 신경에 전자 펄스 적용으로 자극된 혈류 증가를 i.v. 투여된 항체 4901 1 mg/kg의 존재에 의해 유의미하게 저해하였고, 그리고 전자 펄스 자극을 항체 투여 이후 30 분, 60 분, 90 분, 및 120 분에서 적용하는 경우, 복재 신경에 전자 펄스 적용으로 자극된 혈류 증가를 i.v. 투여된 항체 4901 10 mg/kg의 존재에 의해 유의미하게

저해하였다. 도 4b는 전자 펄스 자극을 항체 투여 이후 30 분, 60 분, 90 분, 및 120 분에서 적용하는 경우 항체 7E9 (10 mg/kg, i.v. 투여)의 존재에 의해, 그리고 전자 펄스 자극을 항체 투여 이후 30 분에서 적용하는 경우 항체 8B6 (10 mg/kg, i.v. 투여)의 존재에 의해 복제 신경에 전자 펄스 적용으로 자극된 혈류 증가를 유의미하게 저해하였음을 보여준다.

[0388] 상기 데이터는, 항체 4901, 7E9, 7D11, 및 8B6가 랫트 복제 신경의 자극에 의해 유도된 피부 혈관확장으로 측정 시 CGRP 활성 차단에 효과적임을 나타낸다.

#### 실시예 4. 항-CGRP 항체 G1 및 그 변이체의 특성규명

[0389] 항-CGRP 항체 G1의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역에 대한 아미노산 서열을 도 5에서 보여준다. 항체 G1 및 그 변이체의 발현 및 특성규명을 위하여 하기 방법을 사용하였다.

[0390] 사용된 발현 벡터. 하기와 기재된 것과 유사한 IPTG 유도성 lacZ 프로모터의 제어 하에 항체의 Fab 단편의 발현이 있었으나: Barbas (2001) Phage display: a laboratory manual, Cold Spring Harbor, NY, Cold Spring Harbor Laboratory Press pg. 2.10. Vector pComb3X), 그러나, 변형은 하기 추가의 도메인의 부가 및 발현을 포함하였다: IgG2 인간 면역글로불린의 인간 카파 경쇄 불변 도메인 및 CH1 불변 도메인, Ig 감마-2 사슬 C 영역, 단백질 수탁 번호 P01859; 면역글로불린 카파 경쇄 (호모사피엔스), 단백질 수탁 번호 CAA09181.

[0391] 소규모 Fab 제조. Fab 라이브러리로 (전기천공-능숙한 TG1 세포 또는 화학적으로-능숙한 Top 10 세포를 이용하여) 형질전환된 E. 콜리로부터, 마스터 플레이트 (한천 LB + 카르베니실린 (50 ug/mL) + 2% 글루코오스) 및 작업 플레이트 (2 mL/웰, 96-웰/플레이트) 양쪽을 접종시키기 위해 단일 콜로니를 사용하였고 여기서 각각의 웰은 1.5mL LB + 카르베니실린 (50 ug/mL) + 2% 글루코오스를 함유하였다. 가스 투과성 접착제 셀 (ABgene, Surrey, UK)을 플레이트에 적용하였다. 양쪽 플레이트를 30°C에서 12-16h 동안 항온처리하였고; 작업 플레이트를 격렬하게 진탕하였다. 마스터 플레이트를 필요할 때까지 4°C에서 보관하면서, 작업 플레이트로부터 세포를 펠렛화하였고 (4000 rpm, 4°C, 20 분) 1.0 mL LB + 카르베니실린 (50 ug/mL) + 0.5 mM IPTG에서 재현탁시켜 30°C에서 5h 동안 격렬한 교반에 의해 Fabs의 발현을 유도하였다. 유도 세포를 4000 rpm에서, 4°C 20 분 동안 원심분리시키고, 0.6 mL 비아코어 HB-SEP 베퍼 (10 mM Hepes pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.005% v/v P20)에서 재현탁시켰다. 냉동 (-80°C) 및 그 다음 37°C에서 해동에 의해 HB-SEP 재현탁된 세포의 용해를 달성하였다. 세포 용해물을 4000 rpm에서, 4°C 1 시간 동안 원심분리하여 Fab-함유 상청액으로부터 잔해를 분리하였고, 이는 밀리포어 멀티스크린 검정 시스템 96-웰 여과 플레이트 및 진공 매니폴드를 이용하여 차후에 여과하였다 (0.2 um). 센서 칩에 CGRPs를 거쳐 이들을 주입시킴으로써 여과된 상청액을 분석하기 위해 비아코어를 사용하였다. Fabs를 발현하는 친화도-선택된 클론을 마스터 플레이트로부터 구조하였고, PCR, 서열분석, 및 플라스미드 제조를 위해 주형 DNA를 제공하였다.

[0392] 대규모 Fab 제조. 동력학 파라미터를 수득하기 위해, 하기와 같이 대규모로 Fabs를 발현하였다. 150 mL LB + 카르베니실린 (50 ug/mL) + 2% 글루코오스를 함유하는 삼각 플라스크를 친화도-선택된 Fab-발현 E. 콜리 클론으로부터 1 mL의 "개시제" 밤새 배양으로 예방접종하였다. 나머지 개시제 배양 (~3 mL)을 사용하여 서열분석 및 추가 조작을 위해 플라스미드 DNA (QIAprep mini-prep, Qiagen 키트)를 제조하였다. OD<sub>600nm</sub> 1.0을 획득할 때까지 큰 배양액을 격렬히 흔들면서 30°C에서 항온처리하였다 (전형적으로 12-16 h). 세포를 4000 rpm에서, 4°C 20 분 동안 원심분리에 의해 펠렛화하였고, 150 mL LB + 카르베니실린 (50 ug/mL) + 0.5 mM IPTG에서 재현탁시켰다. 30°C에서 5 h 발현 이후, 세포를 4000 rpm에서, 4°C 20 분 동안 원심분리에 의해 펠렛화하였고, 10 mL 비아코어 HBS-EP 베퍼에서 재현탁시켰고, 단일 냉동 (-80°C)/해동 (37°C) 사이클을 이용하여 용해시켰다. 세포 용해물을 4000 rpm에서, 4°C 1 시간 동안 원심분리에 의해 펠렛화하였고, 상청액을 수집하였고 여과하였다 (0.2um). 여과된 상청액을 PBS, pH 8로 평형화된 Ni-NTA 초유동 세파로오스 (Qiagen, Valencia. CA) 칼럼에 부하하였고, 그 다음 5 칼럼 용적의 PBS, pH 8로 세정하였다. 개별 Fabs는 PBS (pH 8) + 300 mM 이미다졸로 상이한 분획에서 용출하였다. Fabs를 함유하는 분획을 PBS에서 풀링 및 투석하였고, 그 다음 친화도 특성규명에 앞서 ELISA에 의해 정량화시켰다.

[0393] 완전 항체 제조. 완전 항체의 발현을 위해, 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포유동물 발현 벡터에서 클로닝하였고 리포黠타민을 이용하여 일시적 발현을 위하여 HEK 293 세포에 형질감염하였다. 표준 방법을 이용한 단백질 A를 이용하여 항체를 정제하였다.

[0394] 벡터 pDb.CGRP.hFcGI는 G1 항체의 중쇄를 포함하는 발현 벡터이고, 그리고 중쇄의 일시적 또는 안정한 발현에 적합하다. 벡터 pDb.CGRP.hFcGI는 하기 영역에 상응하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다: 첫과 사이토메갈로바이

러스 프로모터 영역 (뉴클레오타이드 7-612); 합성 인트론 (뉴클레오타이드 613-1679); DHFR 암호화 영역 (뉴클레오타이드 688-1253); 인간 성장 호르몬 신호 펩타이드 (뉴클레오타이드 1899-1976); G1의 중쇄 가변 영역 (뉴클레오타이드 1977-2621); 하기 돌연변이를 함유하는 인간 중쇄 IgG2 불변 영역: A330P331 내지 S330S331 (야생형 IgG2 서열을 참조로 아미노산 넘버링; 참고 Eur. J. Immunol. (1999) 29:2613-2624). 벡터 pDb.CGRP.hFcGI를 2005년 7월 15일 ATCC에 기탁하였고, ATCC 수탁 번호 PTA-6867 배정하였다.

[0396] 벡터 pEb.CGRP.hKGI는 G1 항체의 경쇄를 포함하는 발현 벡터이고, 그리고 경쇄의 일시적 발현에 적합하다. 벡터 pEb.CGRP.hKGI는 하기 영역에 상응하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다: 젖과 사이토메갈로바이러스 프로모터 영역 (뉴클레오타이드 2-613); 인간 EF-1 인트론 (뉴클레오타이드 614-1149); 인간 성장 호르몬 신호 펩타이드 (뉴클레오타이드 1160-1237); 항체 G1 경쇄 가변 영역 (뉴클레오타이드 1238-1558); 인간 카파 사슬 불변 영역 (뉴클레오타이드 1559-1882). 벡터 pEb.CGRP.hKGI를 2005년 7월 15일 ATCC에 기탁하였고, ATCC 수탁 번호 PTA-6866 배정하였다.

[0397] 친화도 결정을 위한 비아코어 검정. Biacore3000™ 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 시스템 (Biacore, INC, Piscataway NJ)을 이용하여 G1 단클론성 항체 및 그 변이체의 친화도를 25°C 또는 37°C에서 결정하였다. 미리-고정된 스트렙타비딘 (SA 센서 칩)을 통해 N-말단 바이오티닐화된 CGRP 또는 단편 포착 및 칩에서 CGRP 또는 단편을 거쳐 적정된 항체 G1 Fab 단편 또는 변이체의 결합 동력학 평가에 의해 친화도를 결정하였다. HBS-EP 작동 버퍼 (10 mM HEPES pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.005% v/v 폴리소르베이트 P20)에서 모든 비아코어 검정을 수행하였다. N-바이오티닐화된 CGRP를 0.001 mg/mL 미만의 농도로 HBS-EP 버퍼에서 희석하고 가변 접촉 시간을 이용한 SA 센서 칩을 거쳐 주입함으로써 CGRP 표면을 제조하였다. <50 반응 단위 (RU)의 수준에 상응하는 저용량 표면을 고-분해 동력학 연구에 사용하였고, 반면에 고용량 표면 (약 800 RU의 포착된 CGRP)을 농도 연구, 스크리닝, 및 용액 친화도 결정에 사용하였다. 항체 G1 Fab를 1 uM - 0.1 nM (0.1-10x 추정된  $K_D$ 에서 목표) 범위의 농도에서 2- 또는 3-배 증분으로 연속해서 희석시킴으로써 동력학 데이터를 수득하였다. 샘플을 전형적으로 1 분 동안 100  $\mu$ L/분으로 주사하였고 그리고 적어도 10 분의 해리 시간을 허용하였다. 각각의 결합 사이클 이후, 25% v/v 에탄올에서 25 mM NaOH로 표면을 재생하였고, 이것을 수백 사이클에 걸쳐 용인하였다. BIA평가 프로그램을 이용하여 1:1 랭킹에 결합 모델에 (전형적으로 반복하여 발생된) 전체 적정 시리즈를 맞추었다. 이것은 각각의 결합 상호작용에 대하여 회합 및 해리 동력학 속도 상수 ( $k_{on}$  및  $k_{off}$ )의 독특한 쌍을 가져오고, 이들의 비는 평형 해리 상수 ( $K_D = k_{off}/k_{on}$ )를 제공하였다. 상기 식으로 결정된 친화도 ( $K_D$  값)는 표 6 및 7에 열거된다.

[0398] 극도로 낮은 오프레이트를 갖는 결합 상호작용의 고-분해 분석. 극도로 낮은 오프레이트를 갖는 상호작용을 위해 (특히, 25°C에서 칩에 인간  $\alpha$ -CGRP에 항체 G1 Fab 결합), 2-파트 실험에서 친화도를 수득하였다. 상기 기재된 프로토콜을 하기 변형으로 사용하였다. 100  $\mu$ L/분에서 30 초 동안 550 nM-1 nM 범위로 2-배 적정 시리즈 (반복하여)를 주입 및 단지 30 초 해리 상 허용에 의해 결합 속도 상수 ( $k_{on}$ )를 결정하였다. 3개 농도 (높은, 중간, 및 낮은)의 동일한 적정 시리즈를 반복하여 30 초 동안 주입 및 2-시간 해리 상 허용에 의해 해리 속도 상수 ( $k_{off}$ )를 결정하였다. 표 5에서 보이는 바와 같이, 양쪽 유형의 실험에서 수득된  $k_{on}$  및  $k_{off}$  값을 조합함으로써 각각의 상호작용의 친화도 ( $K_D$ )를 수득하였다.

[0399] 비아코어에 의한 용액 친화도 결정. 랫트  $\alpha$ -CGRP 및 F37A (19-37) 인간  $\alpha$ -CGRP를 위하여 항체 G1의 용액 친화도를 비아코어에 의해 37°C에서 측정하였다. 고용량 CGRP 칩 표면을 사용하였고 (고-친화도 인간  $\alpha$ -CGRP를 검출 목적으로 선택하였다), HBS-EP 작동 버퍼를 5  $\mu$ L/분으로 유동시켰다. (용액-기반 상호작용의 기대된  $K_D$  이하임을 목표된) 일정한 농도 5 nM에서 항체 G1 Fab 단편을 1 nM 내지 1 uM 범위의 최종 농도에서 3-배 연속 희석으로 경쟁 펩타이드, 랫트  $\alpha$ -CGRP 또는 F37A (19-37) 인간  $\alpha$ -CGRP로 미리-항온처리하였다. 용액-기반 경쟁 펩타이드의 부재 또는 존재하에서 항체 G1 Fab 용액을 칩에서 CGRP를 거쳐 주사하였고 그리고 용액 경쟁의 결과로서 칩 표면에서 검출된 결합 반응의 고갈을 모니터링하였다. 보정 곡선을 이용하여 상기 결합 반응을 "자유 Fab 농도"로 전환시켰고, 이는 칩에서 CGRP를 거쳐 항체 G1 Fab 단독 (5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.325 및 0 nM)의 적정으로 제작하였다. 사용된 경쟁 용액-기반 펩타이드의 농도에 대하여 "자유 Fab 농도"를 작도하여 각각의 데이터 포인트를 발생시켰고 그리고 BIA평가 소프트웨어를 이용하여 용액 친화도 모델에 맞추었다. 상기 식으로 (간접적으로) 결정된 용액 친화도를 표 5 및 7에서 보여주고 Fabs가 SA 칩에서 N-바이오티닐화된 CGRPs를 거쳐 직접적으로 주사되는 경우 수득된 친화도를 인증하기 위해 사용하였다. 상기 2가지 방법에 의해 결정된 친화도 사이에서 밀접한 일치는 칩에 CGRP의 N-바이오티닐화된 버전의 둑음이 그 원상태 용액 결합 활성을 변경하지 않음

을 확인한다.

[0400]

아래 표 5는 SA 칩에서 N-바이오티닐화된 CGRPs를 거쳐 Fab 단편을 유동시킴으로써, 비아코어에 의해 결정된 인간  $\alpha$ -CGRP, 인간  $\beta$ -CGRP, 랫트  $\alpha$ -CGRP, 및 랫트  $\beta$ -CGRP에 대한 항체 G1의 결합 친화도를 보여준다. 극도로 낮은 오프레이트와 결합 상호작용의 친화도를 더 잘 분해하기 위해, 상기 검정 방향을 보충하기 위해 2-파트 실험에서 친화도를 또한 결정하였고, 랫트  $\alpha$ -CGRP 상호작용의 용액 친화도를 또한 (상기에서 기재된 바와 같이) 결정하였다. 양쪽 검정 방향에서 측정된 친화도의 밀접한 일치는 용액에서 원상태 랫트  $\alpha$ -CGRP의 결합 친화도가 SA 칩에 N-바이오티닐화되고 묶여지는 경우 변경되지 않음을 확인한다.

### 표 5

[0401]

칩에서 CGRPs에 걸쳐 결정된 항체 G1 Fabs의 결합 친화성

칩에서 CGRP	온도 (°C)	$k_{on}$ (1/Ms)	$k_{off}$ (1/s)	$K_D$ (nM)
인간 $\alpha$ -CGRP	25	$1.86 \times 10^5$	$7.80 \times 10^{-6}$	0.042 (7%, n=4)*
인간 $\alpha$ -CGRP	37	$5.78 \times 10^5$	$3.63 \times 10^{-5}$	0.063 (4%, n=2)*
인간 $\beta$ -CGRP	37	$4.51 \times 10^5$	$6.98 \times 10^{-5}$	0.155
랫트 $\alpha$ -CGRP	25	$5.08 \times 10^4$	$6.18 \times 10^{-5}$	1.22 (12%, n=2)*
랫트 $\alpha$ -CGRP	37	$1.55 \times 10^5$	$3.99 \times 10^{-4}$	2.57* (용액 $K_D=10$ (50%, n=4)**
랫트 $\beta$ -CGRP	37	$5.16 \times 10^5$	$7.85 \times 10^{-5}$	0.152

[0402]

\*  $\alpha$ -CGRPs (랫트 및 인간)에 대한 친화성을 고-분해 2-파트 실험에서 결정하였고, 여기에서 해리 상을 2 시간 동안 모니터링하였다 ( $k_{on}$ ,  $k_{off}$ , 및  $K_D$ 에 대한 값은 퍼센트 변동으로서 표현된 표준 편차를 갖는 n 반복 실험의 평균을 나타낸다). 단지 20-분 해리 상을 이용한 전면적인 분석으로  $\beta$ -CGRPs (랫트 및 인간)에 대한 친화도를 결정하였고, 이는 그 극도의 오프레이트를 정량화할만큼 충분히 정확하지 않았다 (그 오프레이트는 본원에 지정된 것보다 더 느리기 쉽고 따라서 그 친화도는 심지어 더 높기 쉽다). 항체 G1 Fab는 (특히 25°C에서) 비아코어의 분해 한계를 접근하였던 오프레이트로 모든 CGRPs ( $\alpha$ -랫트 CGRP 제외)로부터 극도로 서서히 해리하였다.

[0403]

\*\* 용액-기반 랫트  $\alpha$ -CGRP 경쟁자로 미리-항온처리된 항체 G1 Fab에 대하여 칩위 CGRP에서 측정된 결합 반응의 고갈 평가로 결정된 용액 친화도.

[0404]

아래 표 6은 항체 G1에 비교된 바와 같은 아미노산 서열 변화 및 양쪽 랫트  $\alpha$ -CGRP 및 인간  $\alpha$ -CGRP에 대한 그 친화도를 갖는 항체를 보여준다. 표 6에서 보이는 변이체의 모든 아미노산 치환은 G1의 서열에 비해 기재된다. Fab 단편의 결합 친화도를 SA 칩에서 CGRPs를 거쳐 이들을 유동시킴으로써 비아코어에 의해 결정하였다.

### 표 6

[0405]

비아코어에 의해 37°C에서 결정된 항체 G1 변이체에 대한 아미노산 서열 및 결합 친화도 데이터.

클론	L1	L2	H2	HC-FW3	$\alpha$ -랫트 $k_{off}$ (1/s)	$\alpha$ -랫트 $K_D$ (nM)	$\alpha$ -인간 $k_{off}$ (1/s)	$\alpha$ -인간 $K_D$ (nM)
G1					$3.99 \times 10^{-4}$	2.57	$3.63 \times 10^{-5}$	0.063
M1				A100L	$1.10 \times 10^{-3}$		$1.73 \times 10^{-4}$	
M2				L99A A100R	$2.6 \times 10^{-3}$	58	$3.1 \times 10^{-4}$	3
M3				L99A A100S	$2.0 \times 10^{-3}$	61	$2.1 \times 10^{-4}$	1.7
M4				L99A A100V	$1.52 \times 10^{-3}$	84.4	$6.95 \times 10^{-5}$	0.43
M5				L99A A100Y	$7.35 \times 10^{-4}$	40.8	$3.22 \times 10^{-5}$	0.20

M6				L99N	$7.84 \times 10^{-4}$	43.6	$1.33 \times 10^{-4}$	0.83
M7				L99N A100C	$9.18 \times 10^{-4}$	51.0	$2.43 \times 10^{-4}$	1.52
M8				L99N A100G	$7.45 \times 10^{-4}$	41.4	$9.20 \times 10^{-5}$	0.58
M9				L99N A100Y	n.d.	n.d.	$1.00 \times 10^{-5}$	0.06
M10				L99S A100S	$1.51 \times 10^{-3}$	83.9	$1.73 \times 10^{-4}$	1.08
M11				L99S A100T	$4.83 \times 10^{-3}$	268.3	$2.83 \times 10^{-4}$	1.77
M12				L99S A100V	$1.94 \times 10^{-3}$	107.8	$1.01 \times 10^{-4}$	0.63
M13				L99T A100G	$1.84 \times 10^{-3}$	102.2	$1.86 \times 10^{-4}$	1.16
M14				L99T A100K	n.d.	n.d.	$1.00 \times 10^{-5}$	0.06
M15				L99T A100P	$1.15 \times 10^{-3}$	63.9	$1.58 \times 10^{-5}$	0.10
M16				L99T A100S	$9.96 \times 10^{-4}$	55.3	$1.65 \times 10^{-4}$	1.03
M17				L99T A100V	$2.06 \times 10^{-3}$	114.4	$1.85 \times 10^{-4}$	1.16
M18				L99V A100G	$1.22 \times 10^{-3}$	67.8	$7.03 \times 10^{-5}$	0.44
M19				L99V A100R	n.d.	n.d.	$1.00 \times 10^{-5}$	0.06
M20	R28W			L99R A100L	$1.44 \times 10^{-3}$	80.0	$1.36 \times 10^{-4}$	0.85
M21	R28W			L99S	$6.95 \times 10^{-4}$	<u>15.2</u>	<u><math>1.42 \times 10^{-4}</math></u>	<u>1.23</u>
M22	R28W			L99T	$1.10 \times 10^{-3}$	61.1	$1.16 \times 10^{-4}$	0.73
M23	R28G			L99T A100V	$7.99 \times 10^{-4}$	44.4	$1.30 \times 10^{-4}$	0.81
M24	R28L			L99T A100V	$1.04 \times 10^{-3}$	57.8	$1.48 \times 10^{-4}$	0.93
M25	R28N			L99T A100V	<u><math>1.4 \times 10^{-3}</math></u>	<u>76</u>	<u><math>1.4 \times 10^{-4}</math></u>	<u>1.3</u>
M26	R28N		A57G	L99T A100V	$9.24 \times 10^{-4}$	51.3	$1.48 \times 10^{-4}$	0.93
M27	R28N T30A			L99T A100V	$3.41 \times 10^{-3}$	189.4	$3.57 \times 10^{-4}$	2.23
M28	R28N T30D		E54R A57N	L99T A100V	$1.25 \times 10^{-3}$	69.4	$9.96 \times 10^{-5}$	0.62
M29	R28N T30G			L99T A100V	$3.59 \times 10^{-3}$	199.4	$3.80 \times 10^{-4}$	2.38
M30	R28N T30G		E54K A57E	L99T A100V	$6.38 \times 10^{-3}$	354.4	$5.90 \times 10^{-4}$	3.69
M31	R28N T30G		E54K A57G	L99T A100V	$3.61 \times 10^{-3}$	200.6	$3.47 \times 10^{-4}$	2.17
M32	R28N T30G		E54K A57H	L99T A100V	$2.96 \times 10^{-3}$	164.4	$2.71 \times 10^{-4}$	1.69
M33	R28N T30G		E54K A57N S58G	L99T A100V	$9.22 \times 10^{-3}$	512.2	$7.50 \times 10^{-4}$	4.69

M34	R28N T30G		E54K A57N S58T	L99T A100V	$2.17 \times 10^{-3}$	120.6	$6.46 \times 10^{-4}$	4.04
M35	R28N T30G		E54K A57S	L99T A100V	$3.99 \times 10^{-3}$	221.7	$3.39 \times 10^{-4}$	2.12
M36	R28N T30R			L99T A100V	$4.79 \times 10^{-3}$	266.1	$2.39 \times 10^{-4}$	1.49
M37	R28N T30S		A57G	L99T A100V	$1.45 \times 10^{-3}$	80.6	$2.26 \times 10^{-4}$	1.41
M38	R28N T30W			L99T A100V	$5.11 \times 10^{-3}$	283.9	$2.18 \times 10^{-4}$	1.36
M39	R28N	G50A L56T	A57N S58Y	L99T A100V	$9.95 \times 10^{-3}$	552.8	$4.25 \times 10^{-4}$	2.66
M40	R28N	G50A L56T	E54K A57L	L99T A100V	0.36	20000.0	$1.28 \times 10^{-3}$	8.00
M41	R28N	G50A L56T	E54K A57N E64D	L99T A100V	$4.53 \times 10^{-3}$	251.7	$2.10 \times 10^{-4}$	1.31
M42	R28N	G50A L56T	E54K A57N H61F	L99T A100V	$7.52 \times 10^{-3}$	417.8	$4.17 \times 10^{-4}$	2.61
M43	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58C	L99T A100V	$4.53 \times 10^{-3}$	251.7	$2.63 \times 10^{-4}$	1.64
M44	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58E	L99T A100V	$6.13 \times 10^{-3}$	<u>443</u>	<u><math>2.10 \times 10^{-4}</math></u>	<u>2.05</u>
M45	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58E E64D	L99T A100V	$5.58 \times 10^{-3}$	<u>259</u>	<u><math>2.11 \times 10^{-4}</math></u>	<u>1.85</u>
M46	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58E H61F	L99T A100V	$2.94 \times 10^{-3}$	163.3	$5.39 \times 10^{-4}$	3.37
M47	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58G	L99T A100V	$8.23 \times 10^{-3}$	457.2	$3.32 \times 10^{-4}$	2.08
M48	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58L	L99T A100V	0.0343	1905.6	$8.42 \times 10^{-4}$	5.26
M49	R28N	G50A L56T	E54K A57N S58Y H61F	L99T A100V	0.0148	822.2	$5.95 \times 10^{-4}$	3.72
M50	R28N	G50A L56T	E54K A57R	L99T A100V	$5.30 \times 10^{-3}$	294.4	$4.06 \times 10^{-4}$	2.54
M51	R28N	L56I	E54K A57G	L99T A100V	$1.18 \times 10^{-3}$	65.6	$1.31 \times 10^{-4}$	0.82
M52	R28N	L56I	E54K A57N S58A	L99T A100V	$2.29 \times 10^{-3}$	127.2	$2.81 \times 10^{-4}$	1.76
M53	R28N	L56I	E54K A57N S58G	L99T A100V	$1.91 \times 10^{-3}$	106.1	$3.74 \times 10^{-4}$	2.34

M54	R28N T30A	G50A	E54K A57N S58P	L99T A100V	$2.16 \times 10^{-3}$	120.0	$1.79 \times 10^{-3}$	11.19
M55	R28N T30A	L56S	E54K A57N S58E E64D	L99T A100V	$5.85 \times 10^{-3}$	325.0	$4.78 \times 10^{-4}$	2.99
M56	R28N T30D	L56S	E54K A57N H61F	L99T A100V	$9.35 \times 10^{-3}$	519.4	$4.79 \times 10^{-4}$	2.99
M57	R28N T30D	L56S	E54K A57N S58E	L99T A100V	<u>0.0104</u>	<u>1.200</u>	<u><math>3.22 \times 10^{-4}</math></u>	<u>3.08</u>
M58	R28N T30D	L56S	E54K A57N S58I H61F	L99T A100V	결합 없음	n.d.	$1.95 \times 10^{-3}$	12.19
M59	R28N T30D	L56S	E54K A57N S58N H61F	L99T A100V	0.0123	683.3	$5.24 \times 10^{-4}$	3.28
M60	R28N T30D	L56S	E54K A57N S58R H61F	L99T A100V	0.0272	1511.1	$9.11 \times 10^{-4}$	5.69
M61	R28N T30G	A51H	E54Q A57N H61F	L99T A100V	$5.21 \times 10^{-3}$	289.4	$4.59 \times 10^{-4}$	2.87
M62	R28N T30G	A51H L56T	E54K A57N S58E	L99T A100V	$5.75 \times 10^{-3}$	<u>242</u>	<u><math>5.57 \times 10^{-4}</math></u>	<u>5.86</u>
M63	R28N T30G	G50A	E54K A57N S58T	L99T A100V	$2.65 \times 10^{-3}$	147.2	$1.50 \times 10^{-3}$	9.38
M64	R28N T30G	G50A	E54K A57N S58V	L99T A100V	0.0234	1300.0	$1.32 \times 10^{-3}$	8.25
M65	R28N T30G	G50A L56I	E54K A57C	L99T A100V	$4.07 \times 10^{-3}$	226.1	$8.03 \times 10^{-4}$	5.02
M66	R28N T30G	L56I	E54K A57E	L99T A100V	$5.11 \times 10^{-3}$	283.9	$5.20 \times 10^{-4}$	3.25
M67	R28N T30G	L56I	E54K A57F	L99T A100V	$1.71 \times 10^{-3}$	95.0	$8.20 \times 10^{-4}$	5.13
M68	R28N T30G	L56I	E54K A57N S58D E64D	L99T A100V	$6.76 \times 10^{-3}$	375.6	$4.28 \times 10^{-4}$	2.68
M69	R28N T30G	L56I	E54K A57N S58E	L99T A100V	$1.81 \times 10^{-3}$	100.6	$7.33 \times 10^{-4}$	4.58
M70	R28N T30G	L56I	E54K A57S	L99T A100V	$6.07 \times 10^{-3}$	337.2	$5.59 \times 10^{-4}$	3.49
M71	R28N T30G	L56I	E54K A57Y	L99T A100V	$2.12 \times 10^{-3}$	117.8	$1.28 \times 10^{-3}$	8.00

M72	R28N T30G	L56S	E54K	L99T A100V	$3.95 \times 10^{-3}$	219.4	$4.00 \times 10^{-4}$	2.50
M73	R28N T30G	L56S	E54K A57N S58Y E64D	L99T A100V	$3.00 \times 10^{-3}$	166.7	$2.55 \times 10^{-4}$	1.59
M74	R28N T30G	L56S	E54K A57S	L99T A100V	$6.03 \times 10^{-3}$	335.0	$5.97 \times 10^{-4}$	3.73
M75	R28N T30G	L56S	E54K A57V	L99T A100V	$1.87 \times 10^{-2}$	1038.9	$1.16 \times 10^{-3}$	7.25
M76	R28N T30S	G50A L56T	A57G	L99T A100V	$1.16 \times 10^{-3}$	64.4	$3.64 \times 10^{-4}$	2.28
M77	R28N T30S	G50A L56T	E54K A57D	L99T A100V	0.0143	794.4	$4.77 \times 10^{-4}$	2.98
M78	R28N T30S	G50A L56T	E54K A57N S58T	L99T A100V	0.167	9277.8	$1.31 \times 10^{-3}$	8.19
M79	R28N T30S	G50A L56T	E54K A57P	L99T A100V	0.19	10555.6	$1.29 \times 10^{-3}$	8.06
M80	R28N T30S	L56I	E54K A57N S58V	L99T A100V	0.0993	5516.7	$2.09 \times 10^{-3}$	13.06
M81	R28N T30S	L56S	E54K A57N S58E	L99T A100V	$4.29 \times 10^{-3}$	238.3	$4.90 \times 10^{-4}$	3.06
M82	R28N T30V	A51H L56T	A57N	L99T A100V	$6.99 \times 10^{-3}$	388.3	$8.77 \times 10^{-4}$	5.48
M83	R28N T30V	A51H L56T	E54K A57N S58M H61F	L99T A100V	결합 없음	n.d.	$9.33 \times 10^{-4}$	5.83
M84	R28N T30V	A51H L56T	E54N A57N	L99T A100V	$1.76 \times 10^{-2}$	977.8	$1.08 \times 10^{-3}$	6.75

[0406] 양쪽 카밧 및 초티아 CDR를 포함하는 모든 CDR. 아미노산 잔기를 순차적으로 넘버링한다 (참고 도 5). 모든 클론은 G1에 동일한 L3+H1+H3 서열을 갖는다.

[0407]  $K_D = k_{off}/k_{on}$ . Fab 농도 시리즈 (G1을 고-분해 방식으로 분석하였다)의 전면적인 분석으로 수득되었던, 밀줄친 것을 제외하고 모든  $k_{off}$  값을 스크리닝 방식으로 결정하였다.  $k_{on}$ 을 측정함으로써 따라서 밀줄친  $K_D$  값을 실험적으로 결정하였다. 다른  $k_{on}$  값을 M25와 동일한 것으로 추정하였다.

[0408] n.d. = 결정되지 않음

[0409] 항체 G1에 의해 인식되는 인간  $\alpha$ -CGRP에 에피토프를 결정하기 위해, 상기 기재된 비아코어 검정을 사용하였다. SA 센서 칩을 통해 그 고-친화도 포착을 가능하게 하기 위해 N-바이오티닐화된 버전으로서 인간  $\alpha$ -CGRP를 구매하였다. CGRP 웹타이드의 부재 또는 존재하에 칩위 인간  $\alpha$ -CGRP에 G1 Fab 단편의 결합을 결정하였다. 전형적으로, 2000:1 mol 웹타이드/Fab 용액 (예를 들면, 50nM G1 Fab내 10  $\mu$ M 웹타이드)을 칩위 인간  $\alpha$ -CGRP를 거쳐 주사하였다. 도 6은 경쟁 웹타이드에 의해 차단된 결합의 백분율을 보여준다. 도 6에서 보여준 데이터는 인간  $\alpha$ -CGRP에 G1 Fab의 100% 결합을 차단하는 웹타이드가 하기임을 표시한다: 인간  $\alpha$ -CGRP의 1-37 (WT), 8-37, 26-37, P29A (19-37), K35A (19-37), K35E (19-37), 및 K35M (19-37);  $\beta$ -CGRP (WT)의 1-37; 랫트  $\alpha$ -CGRP (WT)의 1-37; 및 랫트  $\beta$ -CGRP (WT)의 1-37. 모든 이들 웹타이드는 C-말단에서 아미드화된다. 인간  $\alpha$ -CGRP의 웹타이드 F37A (19-37) 및 19-37 (후자는 C-말단에서 아미드화되지 않음)은 또한 인간  $\alpha$ -CGRP에 G1 Fab의 결합의 약 80% 내지 90% 차단되었다. 인간  $\alpha$ -CGRP의 웹타이드 1-36 (C-말단에서 아미드화되지 않음)은 인간  $\alpha$ -CGRP에 G1 Fab의 결합의 약 40% 차단하였다. 인간  $\alpha$ -CGRP의 웹타이드 단편 19-36 (C-말단에서 아미드

화되지 않음); 인간  $\alpha$ -CGRP의 웅타이드 단편 1-13 및 1-19 (모두 C-말단에서 아미드화되지 않음); 및 인간 아밀린, 칼시토닌, 그리고 아드레노메들린 (모두 C-말단에서 아미드화됨)은 침위 인간  $\alpha$ -CGRP에 G1 Fab의 결합과 경쟁하지 않았다. 상기 데이터는 G1이 CGRP의 C-말단 에피토프를 표적함 그리고 최말단 잔기 (F37) 및 그 아미드화의 동일성이 결합에 중요함을 증명한다.

[0410] 인간  $\alpha$ -CGRP (37°C에서)의 변이체에 G1 Fab의 결합 친화도를 또한 결정하였다. 아래 표 7은 N-바이오티닐화된 인간  $\alpha$ -CGRP를 거쳐 G1 Fab 및 침위 변이체를 적정함으로써 직접적으로 측정된 바와 같은 친화도를 보여준다. 표 7에서 데이터는 가장 중요한 잔기인 F37 및 G33으로 C-말단 에피토프에 항체 G1이 결합함을 표시한다. 추가의 아미노산 잔기 (알라닌)가 (아미드화된) C-말단에서 부가된 경우 G1은 CGRP에 결합하지 않는다.

### 표 7

37°C에서 측정된 인간  $\alpha$ -CGRP 및 변이체에 대한 G1 Fab의 결합 친화성 (참고 그 아미노산 서열에 대한 표 4)

침에서 CGRP	$k_{on}$ (1/Ms)	$k_{off}$ (1/s)	$K_D$ (nM)
1-37 (WT)	$4.68 \times 10^5$	$7.63 \times 10^{-5}$	0.16 (고 분해 $K_D = 0.06$ )
19-37	$4.60 \times 10^5$	$7.30 \times 10^{-5}$	0.16
25-37	$3.10 \times 10^5$	$8.80 \times 10^{-5}$	0.28
F27A (25-37)	$3.25 \times 10^5$	$1.24 \times 10^{-4}$	0.38
V28A (25-37)	$3.32 \times 10^5$	$9.38 \times 10^{-5}$	0.28
P29A (25-37)	$2.26 \times 10^5$	$1.78 \times 10^{-4}$	0.79
T30A (25-37)	$1.79 \times 10^5$	$8.41 \times 10^{-5}$	0.47
N31A (25-37)	$2.17 \times 10^5$	$1.14 \times 10^{-4}$	0.53
V32A (25-37)	$2.02 \times 10^5$	$3.46 \times 10^{-4}$	1.71
G33A (25-37)	$2.07 \times 10^5$	0.0291	141
S34A (25-37)	$2.51 \times 10^5$	$7.64 \times 10^{-4}$	3.04
K35A (19-37)	$2.23 \times 10^5$	$2.97 \times 10^{-4}$	1.33
K35E (19-37)	$5.95 \times 10^4$	$5.79 \times 10^{-4}$	9.73
K35M (19-37)	$2.63 \times 10^5$	$1.34 \times 10^{-4}$	0.51
K35Q (19-37)	$1.95 \times 10^5$	$2.70 \times 10^{-4}$	1.38
F37A (25-37)	$8.90 \times 10^4$	$8.48 \times 10^{-3}$	95 (용액 $K_D = 172$ nM)
38A (25-38A)	-	-	검출된 결합 없음

[0412] 상기 데이터는 항체 G1이 결합하는 에피토프가 인간  $\alpha$ -CGRP의 C-말단 끝에 있고, 그리고 인간  $\alpha$ -CGRP에서 아미노산 33 및 37은 항체 G1의 결합에 중요함을 표시한다. 또한, 잔기 F37의 아미드화는 결합에 중요하다.

[0413] 실시예 5: 랫트 복재 신경의 자극에 의해 유도된 피부 혈관확장에 항-CGRP 길항제 항체 G1의 효과

항-CGRP 항체 G1의 길항제 활성을 시험하기 위해, 실시예 3에서 기재된 랫트 모델을 이용하여 랫트 복재 신경의 자극에 의해 피부 혈관확장에서 항체의 효과를 시험하였다. 간단히, 랫트를 2% 이소플루란으로 마취 유지하였다. 복재 신경의 교감성 섬유의 수반되는 자극으로 인한 혈관수축을 최소화하기 위해 실험의 초기에 브레틸리움 토실레이트 (30 mg/kg, i.v. 투여)를 제공하였다. 온도 제어된 가열 블랭킷에 자동온도조절로 연결된 직장 프로브의 사용에 의해 37°C에서 체온을 유지하였다. 오른쪽 뒷다리의 복재 신경을 수술로 노출하였고, 근위로 절단하였고 플라스틱 랩으로 피복하여 건조를 예방하였다. 복재 신경에 의해 신경이 통하게 되는 영역인 뒷발 피부의 중배측 위에 레이저 도플러 프로브를 배치하였다. 혈구 유동으로서 측정된 피부 혈류를 레이저 도플러 유량계로 모니터링하였다. 브레틸리움 토실레이트 주사 이후 30 내지 45분 주사의 2 시간 이내에 항체의 효과를 결정하기 위한 실험에서, 안정한 기준선 유동 (5% 변화 미만)을 적어도 5 분 동안 확립한 경우, 신경을

백금 양극성 전극 위에 배치하였고 (2 Hz, 10 V, 1 ms, 30 초 동안) 및 그 다음 20분 후에 다시 전기 자극하였다. 상기 2개의 자극에 대한 혈류 유동 반응의 평균을 사용하여 전기적 자극에 대한 기준선 반응 (시간 0)을 확립하였다. 항체 G1 (1 mg/kg 또는 10 mg/kg) 또는 비히클 (10 mg/kg G1에 대해 0.01% Tween 20 동등 용적을 갖는 PBS)을 그 다음 정맥내로 (i.v.) 투여하였다. 항체 투여 이후 30 분, 60 분, 90 분, 및 120 분에서 신경을 차후에 자극하였다 (2Hz, 10V, 1 ms, 30 초 동안). 동물을 대략 3 시간의 기간 동안 마취하에 유지하였다. 전기 펄스 자극에 대한 각각의 유동 반응에 대하여 유동-시간 곡선 (AUC, 시간 변화를 곱한 유동 변화와 동일) 하의 면적으로 피부 혈류에서 누적 변화를 추정하였다.

[0415] 도 7에서 보이는 바와 같이, 복제 신경을 항체 투여 이후 90 분에서 전기 자극하는 경우, 비히클에 비교된 바와 같이 1 mg/kg (i.v. 투여)로 항체 G1의 존재에 의해 복제 신경에 전자 펄스 적용으로 자극된 혈류 증가를 유의미하게 저해하였다. 복제 신경을 항체 투여 이후 90 분 및 120 분에서 전기 자극하는 경우, 비히클과 비교로 10 mg/kg (i.v. 투여)로 항체 G1의 존재에 의해 복제 신경에 전자 펄스 적용으로 자극된 혈류 증가를 유의미하게 저해하였다.

[0416] 복제 검정의 더 긴 시점에서 항체의 효과를 검정하기 위한 실험에서, 상기에서 기재된 바와 같이 복제 신경 자극용 동물 제조에 앞서 24 시간 또는 7 일 항체의 표시된 용량을 랫트에 i.v. 주사하였다. 상기 실험에서 투여에 앞서 전기 펄스 자극에 대해 개별 렛트에서 기준선 반응을 확립하는 것은 불가능하였고, 상기 처리된 그룹을 24 시간 또는 7 일에서 비히클 (PBS, 0.01% Tween 20) 투여된 동물과 비교하였다.

[0417] 도 8a 및 8b에서 보이는 바와 같이 동일 시점에서 투여된 비히클 그룹과 비교로 자극에 앞서 24 시간 또는 7 일에서 10 mg/kg 또는 3 mg/kg G1로 투여된 동물의 그룹에서 복제 신경 자극에 의해 유발된 배내측 뒷발 피부에서 혈류 증가를 유의미하게 저해하였다.

[0418] 도 8c는 50% 최대 효과 ( $EC_{50}$ )에 필요한 용량을 측정하기 위해 도 8a 및 8b에서 나타낸 용량 반응 데이터에 적용된 곡선 맞춤 분석을 나타낸다. 24 시간에서  $EC_{50}$ 은 1.3 mg/kg이고 7 일에서  $EC_{50}$ 은 약간 낮다 (0.8mg/kg).

#### 실시예 6: 경막 동맥 (폐쇄된 두개 윈도우) 검정에서 항-CGRP 길항제 항체 mu7E9의 급성 효과

[0420] 폐쇄된 두개 윈도우 모델: 본 실험의 목적은 항-CGRP 길항제 항체의 급성 효과 결정 및 이와 CGRP 수용체 길항제 BIBN4096BS의 급성 효과 비교이었다. 하기 변형으로 이전에 기재된 바와 같이 실험을 수행하였다 (Williamson et al., Cephalgia 17(4):518-24 (1997)). 스프래그 다우리 랫트 (300-400g)를 70mg/kg i.p. 펜토바르비탈로 마취하였다. 마취를 20mg/kg/hr i.v. 펜토바르비탈로 유지하였다. 모든 약물의 전달을 위해 경정맥을 통해 렛트에 캐뉼라삽입하였다. 대퇴골 동맥을 통해 복부 대동맥까지 나삿니가 있는 프로브 (미크로-팁 카테터, Millar Instruments)로 혈압을 모니터링하였다. 렛트를 기관절개하였고 숨쉬는 렛트를 용적 3.5 mL로 분당 75 호흡으로 유지하였다. 뇌정위적 기기에서 머리 고정 및 두피 제거 이후, 시상 봉합에 대해 바로 측면으로 왼쪽 두정 영역에서 2x6mm 윈도우를 치과용 드릴로 골을 얇게함으로써 실시하였다. 미조정장치를 이용하여, 백금 양극성 전극을 표면에서 낮추었고 중 광유로 피복하였다. 전극 윈도우와 나란히 5x6 mm의 또 다른 윈도우를 만들었고 중간 수막성 동맥 (MMA)의 분지의 직경을 CCD 카메라 및 비디오 차원 분석기 (Living Systems)로 계속해서 모니터링하는 중 광유로 충전하였다. 제조 이후 45 분 이상 동안 랫트를 쉬게 하였다. 전기적 자극에 대한 기준선 반응을 확립하였고 (15 V, 10 Hz, 0.5 ms 펄스, 30 초) 그 다음 실험적인 화합물 (10mg/kg mu7E9, 300  $\mu$ g/kg BIBN4096BS 또는 PBS 0.01%Tween 20)로 i.v. 투여하였다. 추가의 전기적 자극을 투여 이후 5 (BIBN4096BS), 30, 60, 90 및 120 분에서 실시하였다. 쳉트 소프트웨어 (ADInstruments)를 이용하여 모든 데이터를 기록하였다.

[0421] 도 9에서 보이는 바와 같이 10mg/kg에서 mu7E9는 투여 이후 60 분 이내 전기장 자극에 의해 유발된 MMA 팽창을 유의미하게 차단하고 검정의 지속시간 내내 (120 분) 효과를 유지한다. 비교로 BIBN4096BS는 투여 5 분 이내 MMA 팽창을 차단하지만 효과는 90 분 지나서 완전히 사라졌다. 차단의 규모는 BIBN4096BS 와 mu7E9 사이에서 비교할만하다.

#### 실시예 7: 경막 동맥 (폐쇄된 두개 윈도우) 검정에서 항-CGRP 길항제 항체 G1의 만성적 효과

[0423] 본 실험의 목적은 항 CGRP 항체가 투여 이후 전기 자극된 MMA 팽창을 7 일 동안 여전히 차단할 수 있는지를 결정하는 것이었다. 렛트의 제조는 하기 예외로 상기에 기재된 급성 실험 (실시예 6)과 동일하였다. 폐쇄된 두개 윈도우 준비 제작 및 자극에 앞서 렛트에 7 일 동안 i.v. (10mg/kg, 3mg/kg 또는 1mg/kg G1) 주사하였다. 급성 실험에서와 같이 투여에 앞서 전기적 자극에 대해 기준선 팽창 반응을 확립하는 것은 불가능하였고 그래서 항체

그룹을 비히클 (PBS, 0.01% Tween 20) 투여된 대조군 그룹에서 MMA의 팽창에 비교하였다. 랫트를 45 분 이상 동안 쉬게한 후 경뇌막을 30 분 간격으로 전기 자극하였다. 자극은 2.5V, 5V, 10V, 15V 및 20V에서 하였고, 모두 30 초 동안 10 Hz, 0.5 ms 펄스이었다.

[0424] 도 10에서 보이는 바와 같이 10 mg/kg 및 3 mg/kg에서 G1은 10 내지 20 볼트의 범위에서 전기적 자극에 의해 유발된 MMA 팽창을 유의미하게 차단하였다. 상기 데이터는 G1이 투여 이후 전기 자극된 MMA 팽창을 최대 7 일 동안 차단할 수 있음을 증명한다.

#### 실시예 8: 모르핀 회수 열감 모델

[0426] 모르핀 회수 랫트 모델은 폐경 열감 기전용 확립된 설치류 모델이다 (Sipe et al., Brain Res. 1028(2):191-202 (2004); Merchenthaler et al., Maturitas 30:307-316 (1998); Katovich et al., Brain Res. 494:85-94 (1989); Simpkins et al., Life Sciences 32:1957-1966 (1983)). 기본적으로 피부 아래 모르핀 펠렛을 이식시킴으로써 모르핀에 랫트를 중독시킨다. 중독시 이들을 즉시 회수로 보내는 날록손 (오피오이드 길항제)으로 동물을 주사하였다. 상기 회수는 피부 온도 증가, 코어 체온 감소, 심박수 증가 및 혈청 황체형성 호르몬 증가가 동반된다. 이들은 인간 열감에서 발생하는 규모 및 타이밍에서 모두 유사하다 (Simpkins et al., Life Sciences 32:1957-1966 (1983)). 더욱이, 만일 랫트를 회수 유도에 앞서 에스트라디올로 처리하면, 열감의 증상은 감소된다 (Merchenthaler et al., Maturitas 30:307-316 (1998)). 이것은 모르핀 회수 모델이 임상 열감을 모방한다고 믿어지는 이유이다.

[0427] 난소적출된 랫트를 찰스 리버 실험실에서 주문하였다. 모르핀 펠렛 (75 mg 모르핀 베이스)을 피하로 이식시킴으로써 7 일 이상 후 난소적출 모르핀 의존성을 만들었다. 2 일 뒤에 2 초과 펠렛을 이식하였다. 다음 날 랫트를 10 mg/kg 4901 [\*\*] 또는 비히클 (PBS, 0.01% tween)로 정맥내로 주사하였다. 2 일 이후 제2 펠렛화 랫트를 케타민 (90 mg/kg)으로 마취시켰고 약간 구속하였다. 표면 온도 열전쌍을 꼬리의 베이스에 텁핑하였고 직장 열전쌍을 사용하여 코어 온도를 측정한다. 챕트 소프트웨어 (ADIstruments)를 이용하여 데이터를 기록하였다. 안정한 기준선 온도의 기록 15 분 이후, 날록손 (1 mg/kg)을 피하로 주사하였다. 온도를 다음 60 분 동안 계속해서 기록하였다. 결과를 도 11a 및 11b에서 보여준다.

#### 실시예 9: 만성적 편두통의 치료

[0429] 나이 45 세 남성 인간 대상체는 적어도 3 개월 동안 만성적 편두통을 갖는 것으로 확인된다. 만성적 편두통을 가짐의 확인은 스크리닝에 앞서 적어도 3 개월 동안 만성적 편두통 (예를 들면, 달마다 15 일)을 시사하는 빈번한 두통의 이력을 관찰함으로써 달성된다. 두통 빈도의 입증은 적어도 15 일에 두통을 증명하는 장기적으로 수집된 기준선 정보를 통해 달성되고, 달마다 적어도 8 일은 하기 중 임의의 하나를 이행한다: i. 편두통 발병인 것으로 적격; 및/또는 ii. 편두통 조짐에 의해 선행 또는 동반.

[0430] 대상체에서 편두통의 발생빈도를 감소시키기 위해, 대상체는 225 mg의 항-CGRP 길항제 항체 (예를 들면, 항체 G1)의 용량으로 투여된다. 항-CGRP 길항제 항체는 150 mg/mL의 농도로 액체 제형으로서 공급된다. 225 mg 용량은 대상체의 신체의 윗쪽 팔의 뒤에 1.5 mL의 피하 주사로서 투여된다. 대안적으로, 용량은 정맥내 주입을 통해 상기 대상체에게 제공될 수 있다. 상기 경우에서, 5.85 mL의 150 mg/mL 항-CGRP 항체는 백내 총 용적 130 mL로 IV 백에서 0.9% 염화나트륨 용액 (생리식염수)과 조합될 수 있다. 100 mL의 IV 백 용적은 상기 대상체에게 1 시간의 과정에 걸쳐 총용량 225 mg으로 정맥내로 주입된다. 편두통의 감소된 발생빈도가 관측될 때까지 매 28 일 투여가 반복된다. 만성적 편두통의 감소된 발생빈도는 두통 일의 수, 두통이 발생하는 시간 (예를 들면, 두통 시간)의 수, 두통의 중증도, 및 대상체에서 관측된 편두통 일의 수를 포함하는 다양한 기준을 이용하여 조사된다.

#### 실시예 10: 만성적 편두통의 치료

[0432] 나이 37 세 여성 인간 대상체는 적어도 3 개월 동안 만성적 편두통을 갖는 것으로 확인된다. 만성적 편두통을 가짐의 확인은 스크리닝에 앞서 적어도 3 개월 동안 만성적 편두통 (예를 들면, 달마다 15 일)을 시사하는 빈번한 두통의 이력을 관찰함으로써 달성된다. 두통 빈도의 입증은 적어도 15 일에 두통을 증명하는 장기적으로 수집된 기준선 정보를 통해 달성되고, 달마다 적어도 8 일은 하기 중 임의의 하나를 이행한다: i. 편두통 발병인 것으로 적격; 및/또는 ii. 편두통 조짐에 의해 선행 또는 동반.

[0433] 대상체에서 편두통의 발생빈도를 감소시키기 위해, 대상체는 675 mg의 항-CGRP 길항제 항체 (예를 들면, 항체 G1)의 초기 부하 용량으로 투여된다. 항-CGRP 길항제 항체는 150 mg/mL의 농도로 액체 제형으로서 공급된다. 675 mg 부하 용량은 대상체의 신체의 다양한 영역 (예를 들면, 윗쪽 팔의 뒤, 하복부/배/허리둘레, 허벅지의 앞

쪽 등)에 1.5 mL의 3개의 225 mg 피하 주사로서 투여된다. 편두통의 감소된 발생빈도가 관측될 때까지 매 28 일 225 mg (예를 들면, 대상체의 팔에 하나의 1.5 mL 피하 주사를 통해) 투여가 반복된다. 만성적 편두통의 감소된 발생빈도는 두통 일의 수, 두통이 발생하는 시간 (예를 들면, 두통 시간)의 수, 두통의 중증도, 및 대상체에서 관측된 편두통 일의 수를 포함하는 다양한 기준을 이용하여 조사된다.

[0434] 실시예 11: 만성적 편두통의 치료

[0435] 나이 23 세 남성 인간 대상체는 적어도 3 개월 동안 만성적 편두통을 갖는 것으로 확인된다. 만성적 편두통을 가짐의 확인은 스크리닝에 앞서 적어도 3 개월 동안 만성적 편두통 (예를 들면, 달마다 15 일)을 시사하는 빈번한 두통의 이력을 관찰함으로써 달성된다. 두통 빈도의 입증은 적어도 15 일에 두통을 증명하는 장기적으로 수집된 기준선 정보를 통해 달성되고, 달마다 적어도 8 일은 하기 중 임의의 하나를 이행한다: i. 편두통 발병인 것으로 적격; 및/또는 ii. 편두통 조짐에 의해 선행 또는 동반.

[0436] 대상체에서 편두통의 발생빈도를 감소시키기 위해, 대상체는 900 mg의 항-CGRP 길항제 항체 (예를 들면, 항체 G1)의 용량으로 투여된다. 항-CGRP 길항제 항체는 150 mg/mL의 농도로 액체 제형으로서 공급된다. 900 mg 용량은 대상체의 신체의 다양한 영역 (예를 들면, 윗쪽 팔의 뒤, 하복부/배/허리둘레, 허벅지의 앞쪽 등)에 1.5 mL의 4개의 225 mg 피하 주사로서 투여된다. 편두통의 감소된 발생빈도가 관측될 때까지 매 28 일 투여가 반복된다. 만성적 편두통의 감소된 발생빈도는 두통 일의 수, 두통이 발생하는 시간 (예를 들면, 두통 시간)의 수, 두통의 중증도, 및 대상체에서 관측된 편두통 일의 수를 포함하는 다양한 기준을 이용하여 조사된다.

[0437] 실시예 12: 간헐적 편두통의 치료

[0438] 나이 28 세 남성 인간 대상체는 높은 빈도로 간헐적 편두통을 갖는 것으로 확인된다. 대상체는 하기를 포함하는 기준을 이용하여 높은 빈도로 간헐적 편두통을 갖는 것으로 확인된다: 스크리닝에 앞서 적어도 3 개월 동안 달마다 8 일 초과 두통의 이력을 가짐; 및 8 내지 14 일에 (임의의 유형의) 두통을 증명하는 장기적으로 수집된 기준선 정보를 통한 두통 빈도의 입증 (적어도 8 일은 하기 중 적어도 하나를 이행한다: i. 편두통; ii. 정황적 편두통; 및/또는 iii. 트립탄 또는 맥각 화합물의 이용).

[0439] 대상체에서 편두통의 발생빈도를 감소시키기 위해, 대상체는 675 mg의 항-CGRP 길항제 항체 (예를 들면, 항체 G1)의 용량으로 투여된다. 항-CGRP 길항제 항체는 150 mg/mL의 농도로 액체 제형으로서 공급된다. 675 mg 용량은 대상체의 신체의 다양한 영역 (예를 들면, 윗쪽 팔의 뒤, 하복부/배/허리둘레, 허벅지의 앞쪽 등)에 1.5 mL의 3개의 225 mg 피하 주사로서 투여된다. 편두통의 감소된 발생빈도가 관측될 때까지 매 28 일 투여가 반복된다. 간헐적 편두통의 감소된 발생빈도는 두통 일의 수, 두통이 발생하는 시간 (예를 들면, 두통 시간)의 수, 두통의 중증도, 및 대상체에서 관측된 편두통 일의 수를 포함하는 다양한 기준을 이용하여 조사된다.

[0440] 실시예 13: 간헐적 편두통의 치료

[0441] 나이 52 세 여성 인간 대상체는 높은 빈도로 간헐적 편두통을 갖는 것으로 확인된다. 대상체는 하기를 포함하는 기준을 이용하여 높은 빈도로 간헐적 편두통을 갖는 것으로 확인된다: 스크리닝에 앞서 적어도 3 개월 동안 달마다 8 일 초과 두통의 이력을 가짐; 및 8 내지 14 일에 (임의의 유형의) 두통을 증명하는 장기적으로 수집된 기준선 정보를 통한 두통 빈도의 입증 (적어도 8 일은 하기 중 적어도 하나를 이행한다: i. 편두통; ii. 정황적 편두통; 및/또는 iii. 트립탄 또는 맥각 화합물의 이용).

[0442] 대상체에서 편두통의 발생빈도를 감소시키기 위해, 대상체는 225 mg의 항-CGRP 길항제 항체 (예를 들면, 항체 G1)의 용량으로 투여된다. 항-CGRP 길항제 항체는 150 mg/mL의 농도로 액체 제형으로서 공급된다. 225 mg 용량은 대상체의 신체의 윗쪽 팔의 뒤에 1.5 mL의 피하 주사로서 투여된다. 편두통의 감소된 발생빈도가 관측될 때까지 매 28 일 투여가 반복된다. 간헐적 편두통의 감소된 발생빈도는 두통 일의 수, 두통이 발생하는 시간의 수, 두통의 중증도, 및 대상체에서 편두통 일의 수 관찰을 포함하는 다양한 관찰을 이용하여 조사된다.

[0443] 실시예 14: 비-임상 독성학 및 약동학

[0444] 항-CGRP 길항제 항체 G1은 스프래그-다우리 (SD) 랫트 및 사이노몰구스 원숭이내 1-개월 IV 반복-용량 독성 연구에서 잘-용인되었고 그리고 무 표적 기관 독성은 상기 연구 중 하나로 결정되었다. 100 mg/kg/주의 무 유해 사례 수준 (NOAEL)이 양쪽 랫트 및 원숭이 연구에 대해 확립되었다. 상기 투여 수준은 랫트 및 원숭이 각각에서 최대 농도 (C<sub>max</sub>) 2,570 및 3,440  $\mu$ g/mL 및 곡선하면적 (AUC(0-168h)) 194,000  $\mu$ g · h/mL 및 299,000  $\mu$ g · h/mL (22일째)로 전신 노출에 상응하였다.

[0445] 3-개월 IV/SC 랫트 연구에서, 무 표적 기관 독성이 확인되었고 그리고 G1은 최고 시험된 용량, 300 mg/kg까지

잘-용인되었다. 3-개월 원숭이 연구에서, 면역 복합체의 침착의 결과로서, 섬모 동맥의 말초혈관 염증은  $\geq 100$  mg/kg에서 관측되었다. 상기 발견은 인간화된 항체에 대한 원숭이 면역원성 반응에 기인하였고 그리고 임상적으로 관련된 것으로 고려되지 않았다. 상기 원숭이 연구에서 최고 시험된 용량 300 mg/kg은 mg/kg 기준으로 (평균 대상체 중량 70 kg 추정) 최고 기대된 임상 용량 2,000 mg 또는 29 mg/kg 보다 적어도 10-배 더 크다.

[0446] 실시예 15: 임상 약동학

[0447] 단일 IV 노출에 따른 항체 G1의 PK는 10 내지 2,000 mg 사이의 용량을 시험하는 4개의 무작위의, 위약 대조된, 이중맹검 연구에서 시험되었다. 1시간 IV 주입의 종료 직후 최대 혈장 농도 ( $C_{max}$ )는 달성되었다.  $C_{max}$  ( $T_{max}$ )에 대한 중위 시간은 1.0 내지 3.0 시간 범위이었고, 그 다음 다중상 감소이었다.  $C_{max}$  및 총 노출은 G1의 상승하는 용량과 대략 선형으로 증가하였다. 말단 반감기 ( $t_{1/2}$ )는 36.4 내지 48.3 일 범위이었다. 간에서 G1 대사의 증거는 없고, 대사의 일차 방식은 프로테아좀성 분해이다.

[0448] 한 연구는 2회, 2 주 간격으로 제공된 30 mg 및 300 mg 용량의 약동학을 정의하였다. 최대 농도 및 농도-시간 프로파일하 면적은 용량 증가와 함께 증가하였다. 제2 용량 이후 분명한 말단 반감기 ( $t_{1/2}$ )는 41.2 일 (30 mg) 및 50.0 일 (300 mg) (산술 평균)이었다. 15 일 간격으로 투여된 2개의 IV 용량 이후 G1의 혈장 축적 비는 1.5 (30 mg) 및 1.4 (300 mg)이었다.

[0449] 실시예 16: 임상 안전성 및 약동학

[0450] 6개의 연구에서, 항체 G1을 118명의 건강한 남성 및 여성에 투여하였고, 이중 57명의 남성 및 여성 대상체는 위약을 받았다. 연구는 0.2 mg 내지 2,000 mg 범위의 단일 IV 용량, 매 14 일에 1회 제공된 최대 300 mg의 2개 IV 용량, 및 225 및 900 mg의 SC 투여를 포함하였다. 6개의 연구는 하기를 포함하였다: 건강한 남성에서 2개의 IV 단회 용량 단계적 확대 PK 및 약력학 (PD) 연구 (연구 B0141001 및 B0141002); 건강한 지원자에서 캡사이신 섬광 반응시 항체 G1의 IV 투여의 급성 효과를 조사하기 위한 2-집단, 위약 대조된 교차혼합 연구 (B0141006); 건강한 남성 및 여성 지원자에서 항체 G1의 평행한 그룹 반복 용량 연구 (B0141007); 건강한 여성 지원자에 IV 투여된 용량 최대 2,000 mg의 안전성 및 내성을 평가하는 단회 용량 연구 (B0141008), 및 IV 와 SC 투여 (G1-SC-IV) 사이에서 상대적 안전성 및 생체이용률을 비교하는 연구.

[0451] 6개의 연구는 표 11에서 아래 요약된다. 5개의 IV 연구 (B0141001, B0141002, B0141006, B0141007 및 B0141008) 중, 3개는 사실상 동일한 설계 및 평가를 가졌다. 연구 B014100은 단일 1시간 IV 주입으로서 제공된 용량 0.2 mg, 1 mg, 및 3 mg을 시험하였다. 연구는 평행 설계를 가졌다. 참가자는 주입 이후 7 일 동안 병상에서 국한되었고, 각각의 이들 일에 다중 평가되었다. 방출 이후, 환자는 방출 이후 1 주 (제14일), 및 그 다음 주입 이후 1, 2, 및 3 개월 재평가되었다. 연구 B0141002는 단일 투여로서 10 mg 내지 1000 mg 범위의 용량을 시험하였다. 마지막으로, 연구 B0141008은 용량 300 mg, 1000 mg, 1500 mg, 또는 2000 mg을 시험하였다. 항체 G1의 IV 주입 이후 1 주까지 캡사이신 섬광 저해 평가를 통해 약동학적 판독을 통합하는 것을 또한 목표로 하기 때문에 연구 B0141006은 기타 중에서 뚜렷이 상이하였다.

[0452] IV 연구를 위해, 유해 사례 (AES) 프로파일은 단지 최초 투여된 기간에 대하여 보고되었다. 연구 B0141007은 평행한 디자인을 이용하여 2 주 간격으로 제공된 30 또는 300 mg IV에서 항체 G1의 다중 용량을 시험하였다. 각각의 자격있는 대상체는 치료 배정에 함유된 상호작용하는 웹-기반 시스템을 통해 무작위화 서열 배정되었다. 무작위화 개요는 선도 통계학자에 의해 개발되었다. 모든 연구에서 참가자는 일반적으로 건강한 남성 및 여성 (18 내지 65 세)이었고; 모든 참가자는 고지에 의한 동의 형태에 서명하였다. 모든 연구는 조사 심의 위원회 (IRBs)에 의해 승인되었다. AES는 연구 약물에 대한 인과관계 있거나 없이 임상 연구 참가자에서 임의의 유해한 의료 발생으로서 정의되었다. 연구 약물 또는 위약의 투여 이후 관측된 AES는 연구 약물을 이용한 잠재적인 인과성과 무관하게 "치료후 발생하는" AE (TEAES)로 지칭되었다. TEAES를 경험하는 모든 대상체는 사례가 해결될 때 까지 또는 사례가 안정화하고/하거나 신규 기준선에 도달할 때까지 적절한 시간 간격을 따랐다. 모든 TEAES는 경도, 중간, 또는 중증으로 등급화되었다. 심각한 AES (SAEs)는 임의의 용량에서 사망을 초래하는, 생명 위협하는 (즉 대상체가 사례시에 사망의 즉각적인 위험에 있음), 입원환자 입원 또는 기존 입원의 연장이 필요한, 지속적 또는 유의미한 장애/무능력 (예를 들면, 정상 생활 기능을 실시하기 위한 대상체의 능력의 실질적인 파괴)을 초래하는, 선천성 이상/선천적 장애, 또는 임의의 다른 의료적으로 중요한 질병을 초래하는 임의의 유해한 의료 발생으로서 선형적으로 정의되었다. 하기 상황 중 하나가 존재하는 경우 치료-관련된 AE (TRAES)가 고려되었다: 1) AE의 개시와 시험용 생성물의 투여 사이의 타당한 일시적 관계가 확인될 수 있음; 2) AE가 환자의 임상 상태, 병발성 병, 또는 수반되는 요법에 의해 쉽게 설명될 수 없음; 3) AE가 시험용 생성물의 단절 또는 용량 감소를 약화시킴.

[0453]

혈압, 펠스 속도 및 경구 온도는 스크리닝에서, 투여전에서, 주입 종료 직후 그리고 병상에서 환자 격리 동안 여러번, 뿐만 아니라 모든 임상 방문에서 측정되었다. 실험실 시험은 혈청 화학, 혈액학, 및 요검사를 포함하였다. 혈액학, 화학, 응고, 그리고 소변 안전성 실험실 시험은 다중 연구 시간에서 수행되었다. ECGs는 스크리닝에서, 제1일에서의 투여 전에, 주입 종료 직후 및 제1 일 동안 5번의 다른 시간, 뿐만 아니라 모든 임상 방문에서 기록되었다. QTcF 값은 프리테리시아 (QTcF) 심박수 수정 식을 이용하여 유도되었다. ECG 파라미터 QT 간격, 심박수, QTcF 간격, PR 간격 및 QRS 간격에 대하여 기준선으로부터 절대적인 값 및 변화는 집단, 치료, 및 시간 투여후에 의해 평가되었다. 상기 기재된 안전성 평가에 더하여, 프로토콜 B014008은 기준선에서 그리고 투여 이후 3개 시점 (제28일, 제84일, 및 제168일)에서 완벽한 안과 평가를 포함하였다.

[0454]

임상 데이터 및 활력 징후는 서술적인 표 및 요약 통계를 이용하여 요약되었다. 실험실 및 다른 안전성 데이터는 임의의 변화 (참조 범위 밖의 값), 뿐만 아니라 선형적으로 정의된, 임의의 임상 관련된 변화의 기능으로서 요약되었다. 요약 표는 용량에 의해 계층화되고, 데이터는 연구를 거쳐 풀링되었다. 또한, 모든 항체 G1 노출에 대하여 통합된 데이터용 비교는 위약과 대조되었다. 위약은 또한 100 mg 이상 (100 mg, 300 mg, 1000 mg, 1500 mg, 및 2000 mg)의 항체 G1 용량, 및 1000 mg 이상 (1000 mg, 1500 mg, 및 2000 mg)의 항체 G1 용량과 대조되었다.

[0455]

IV/SC 연구 (G1-SC-IV)에서, 36 대상체는 무작위로 선택되어 항체 G1 (225 또는 900 mg) 또는 위약의 단일 투여를 받았고, 피하 (SC) 볼러스 주사 또는 1시간 IV 주입으로서 전달되었다. 대상체는 투여 이후 7 일 동안 임상 조사 단위에서 격리되었고, 그리고 연구 일 90 까지 추가의 외래환자 방문으로 주기적으로 병상에 돌아왔다. ECGs는 대상체가 격리되는 동안 제1일 (투여전, 제1, 제6, 제12 시간), 제3일, 제7일에서 그리고 연구 종료시 (제90일) 1회 광범위하게 수행되었다. 온도, 혈압 및 심박수를 포함하는, 활력 징후는 투여전, 제1, 제3, 제7 및 제90일에서 수집되었다.

표 11

연구	연구 모집단	항체 G1을 이용한 치료
B0141001	건강한 성인 남성 (n = 24)	8 (6/집단, 활성 치료; 위약 집단내 2)의 집단에서 0.2, 1 또는 3 mg의 단일 정맥내 (IV) 주입
B0141002	건강한 성인 남성 (n = 40)	8 (6/집단, 활성 치료; 위약 집단에서 10)의 집단에서 10, 30, 100, 300 또는 1000 mg의 단일 IV 주입
B0141006	건강한 성인 남성 (n = 12)	6개의 집단에서 2 집단 개별된 교차혼합, 위약 또는 300 mg IV 주입. 제1 기간에서, 모든 참가자는 위약을 받았다. (본원에 포함된) 제2 기간 동안, 12 참가자는 위약을 받았고 11은 300 mg을 받았다.
B0141007	건강한 성인 남성 및 여성 (n = 21)	10 또는 11 (6/집단, 활성 치료; 위약 집단에서 9)의 집단에서 30 또는 300 mg으로 2주 간격 2개 IV 주입
B0141008	건강한 성인 여성 (n = 31)	300, 1000, 1500, 또는 2000 mg의 단일 IV 주입 (2000 mg 집단에서 5; 6/집단 잔류 치료 그룹; 위약 집단에서 8)
G1-SC-IV	36 대상체 (n = 36)	225 또는 900 mg의 단일 피하 (SC) 볼러스 주사 또는 단일 IV 주입

[0457]

5개의 IV 연구 (0.2 내지 2,000 mg)에서 평가된 넓은 범위의 복용량을 거쳐, IV 항체 G1은 허용가능하게 용인되었다. 표 8은 IV 연구에 대하여 복용에 의한 전반적인 유해 사례 (AE) 비율을 요약한다. 상기 내성 결과에 기반하여, 명시적 안전성 관심은 부각되지 않았다. IV 연구에서 모든 시도를 거쳐, 위약을 받은 참가자는 평균 1.3 치료후 발생하는 유해 사례 (TEAEs)를 보고하였다. 연구 약물에 대한 관계의 조사자의 의견과 무관하게, 이들은 모두 보고된 사례이다. 모든 IV G1 용량을 거쳐, 비율은 1.4 TEAEs/대상체이었다. 100 mg 이상의 G1 용량을 받은 대상체는 평균 1.5 TEAEs를 가졌고; 1,000 mg 이상의 용량을 받은 대상체는 평균 1.6 TEAEs를 가졌다.

표 8

	AE에 대하여 평가된 대상체	AEs - n (N)의 수	AE - n (N)을 갖는 대상체	심각한 AE - n (N)을 갖는 대상체	중증 AE - n (N)을 갖는 대상체	AEs - n (N)에 대하여 중단된 대상체	감소된 용량 또는 일시적 불연속 - n (N)
위약	45	57 (11)	23 (8)	0	0	2 (1)	0
0.2mg	6	5 (0)	2 (0)	0	0	0	0

<b>1mg</b>	6	1 (1)	3 (0)	0	0	0	0
<b>3mg</b>	6	10 (2)	4 (1)	0	0	0	0
<b>10mg</b>	6	5 (1)	4 (1)	0	0	0	0
<b>30mg</b>	12	21 (11)	8 (5)	0	0	0	0
<b>100mg</b>	6	5 (1)	4 (1)	0	0	0	0
<b>300mg</b>	29	47 (10)	20 (7)	1 (1)	1 (1)	0	0
<b>1000mg</b>	12	17 (4)	8 (4)	0	0	0	0
<b>1500mg</b>	6	8 (0)	3 (0)	0	1 (0)	0	0
<b>2000mg</b>	5	12 (2)	4 (1)	0	0	0	1 (1)

[0459]

AE = 유해 사례; n = 임의의 사례, 치료 관련된 또는 치료 없음; (N) = 조사자에 의해 관련되는 고려된 치료.

주석: 프로토콜 B0141006 (위약 및 300mg)에 대하여, 단지 제1 활성 치료 기간에 대한 데이터가 그 교차혼합 성질 때문에 포함되었다.

[0460]

IV 연구에서, 치료-관련된 유해 사례 (일차 조사자에 따른 요법에 관련될 수 있는 TRAEs, 또는 AEs)는 위약을 받은 대상체에서 17.7% 와 비교로, IV G1을 받은 대상체의 21.2%로 보고되었다. 100 mg의 G1 이상의 용량에서, TRAEs는 참가자의 22.4%에서 발생하였다. 1,000 mg 이상의 용량에서, TRAEs는 참가자의 21.7%에서 발생하였다. 항체 G1은 활력 징후 (수축 및 심장확장 혈압 [BP], 온도 및 심박수 [HR]), 심전도 (ECG) 비정상 (QTcB 및 QTcF 포함), 주입 부위 반응, 또는 임상 실험실 조사결과에서의 변화의 임의의 임상적으로 관련된 패턴에 관련되는 것으로 보이지 않는다. 위약을 받는 1 대상체에서 총 빌리루빈내 등급 1 증가 (연구 B0141001), 및 위약을 받는 1 대상체에서 ALT내 등급 1 증가 (연구 B0141002)로 간 기능 시험 (아스파르테이트 아미노기전달효소 [AST], 알라닌 아미노기전달효소 [ALT], 총 빌리루빈, 및 알칼리성 포스파타제)에 관한 효과를 제한하였다. 임상적으로 유의미한 간 기능 비정상은 임의의 연구된 용량 G1을 받는 대상체 중에서 보이지 않았다. 신장 기능을 평가하는 혈액 시험, 전해질, 또는 소변 시험에서 G1과 위약 사이의 차이의 증거는 없었다.

[0461]

IV/SC 연구 (G1-SC-IV)에서, 안전성 및 내성은 SC와 전달의 IV 경로 사이에서 비교할만하였다. 평균 심박수 및 혈압 (심장확장 및 수축)은 항체 G1 치료에 의해 영향받지 않았고, SC 항체 G1을 이용한 치료 이후 임의의 심혈관 파라미터에서 임의의 유의미한 변화가 없었다. SC 연구 동안 관측된 TRAEs의 요약은 표 12에서 아래 보인다.

## 표 12

	900 mg (N=6)	225 mg (N=6)	위약 (N=6)
GI 장애	2 (33.3%)	0	1 (16.7%)
CNS	0	1 (16.7%)	0
감염 및 침입	0	0	0
근골격 및 결합 조직	0	0	0
호흡기	0	0	0
재생산적인 및 유방 장애	0	0	0
부상	0	0	0
임신	0	0	0
신장	1 (16.7%)	0	0
혈관	0	0	0

[0463]

단회 용량 연구 (B0141001, B0141002, B0141006 및 B0141008)에서, 약력학적 (PK) 파라미터는 30 mg 내지 2,000 mg 범위의 용량에 대하여 계산되었다. 그룹 평균 말단 반감기 ( $t_{1/2}$ )는 대략 40 내지 48 일 범위이었다.  $C_{max}$  및 총 노출 ( $AUC_{inf}$ 에 의해 평가됨)은 용량 증가와 함께 증가하였다.  $AUC_{inf}$ 에서 증가는 30 내지 1,000 mg 사이에서 비례하는 대략적인 용량인 것으로 보이고 그리고 1,000 내지 2,000 mg 사이에서 비례하는 용량보다 더 크다고 보인다. 분포의 용적은 6-10 L 사이로 낮았다.

[0464]

2 용량 연구 (B0141007)에서, 제2 용량 이후 분명한 말단 반감기는 41 내지 50 일 사이이었다. 혈장 농도는 대략 1.5의 축적비로 제2 용량 이후 축적하였다. 게다가, IV/SC 연구 (G1-SC-IV)에서, 약력학적 평가는 G1이 IV로서 SC를 전달한 경우 유사한 말단 반감기를 가졌음을 표시하였다.

[0465] 실시예 17: 항체 G1의 임상 연구에서 만성적 편두통의 예방

위약에 대한 항-CGRP 길항제 항체 G1을 비교하는 다중중심, 무작위의, 이중맹검, 이중더미, 위약 대조된, 평행한 그룹, 다중-용량 연구는 만성적 편두통을 갖는 대상체에서 수행되었다. 적격 대상체는 기준선, 28-일 도입 기간을 참가하였다. 대상체는 전자 두통 일기 시스템을 이용하여 전체 연구 동안 매일 포착된 그 두통 및 건강 정보를 가졌다. 편두통 약물의 변화 없음을 도입 기간 또는 연구 동안 허용되었다. 포함 기준은 하기와 같았다: (1) 18 내지 65세의 남성 또는 여성; (2) 임의의 공지된 및 잠재적인 위험 및 이용가능한 대안적인 치료를 포함하는 연구의 모든 적절한 측면을 대상체가 고지받음을 표시하는 서명되고 날짜 기입된 고지에 의한 동의 문서; (3) 두통 장애의 국제 분류 (ICHD-III 베타 버전, 2013)에서 열거된 진단 기준을 충족시키는 만성적 편두통; (4) 만일 용량 및 처방이 기간 28-일 진행 시작에 앞서 적어도 2 개월 동안 안정하면 대상체가 편두통 (예를 들면, 토피라메이트, 프로프라놀롤, 아미트립틸린)에 대한 또는 다른 의학적 상태 (예를 들면 고혈압에 사용된 프로프라놀롤)에 대한 최대 2개의 상이한 매일 편두통 예방적 약물을 사용할 수 있음; (5) 체질량 지수 (BMI) 17.5 내지  $34.5 \text{ kg/m}^2$ , 및 총 체중 50 kg 및 120 kg(둘 모두 포함); (6) 대상체가 상기 방법에서 정의된 바와 같이 재생산적 잠재성이지 않거나 또는 만일 대상체가 재생산적 잠재성이면, 이들은 금욕적으로 남아있는데 동의하거나 또는 연구의 예상된 지속시간 내에 산아 제한의 허용가능한 방법을 사용 (또는 그 상대 사용)에 동의함; (7) 최소 24/28 일 (85% 수용상태)에 두통 데이터의 참가에 의해 도입 기간 동안 전자 두통 일기를 갖는 실증된 수용상태. 상기 (3) 하의 만성적 편두통 진단 기준은 하기와 같았다: (a) 스크리닝에 앞서 적어도 3 개월 동안 만성적 편두통 (달마다 15 일)을 제안하는 빈번한 두통의 이력; (b) 적어도 15 일에 두통을 증명하는 28-일 도입 단계 동안 장기적으로 수집된 기준선 정보를 통한 두통 빈도의 입증 (달마다 적어도 8 일은 하기 중 임의의 하나를 이행한다: (i) 편두통 발병으로서 적격, (ii) 편두통 조짐에 의해 선행 또는 동반, 또는 (iii) 맥각 또는 트립탄 유도체에 의해 완화).

대상체가 임의의 하기를 충족하지 못하는데 필요한 배제 기준: (1) 50세의 나이 이후 만성적 편두통의 개시; (2) 스크리닝에 앞서 6 개월 동안 머리, 얼굴, 또는 목에서 주사가 필요한 임의의 의료적 또는 미용적 이유로 또는 편두통을 위해 대상체가 오나보툴리늄 독소 A를 받음; (3) 편두통의 치료를 위해 또는 임의의 다른 이유로 달마다 4 일 초과에 대상체가 오피오이드 (코데인 포함) 또는 바르비투레이트 (Fiorinal®, Fioracet®, 또는 부탈비탈을 함유하는 임의의 다른 조합 포함)를 함유하는 약물을 사용함; (4) 적절한 치료적 시도 이후 간헐적 또는 만성적 편두통의 예방적 치료에 대하여 효능 부족 때문에 (2개 약물 카테고리 이내)  $> 2$  약물 카테고리 또는  $> 3$  예방적 약물 실패; (5) 조사자의 재량으로 임상적으로 유의미한 혈액, 신장, 내분비, 폐, 위장, 비뇨생식, 신경, 또는 안구 질환; (6) (Diagnostic and Statistical Manual 5th edition [DSM-5] 기준에 따른) 주요 우울증, 공황 장애, 또는 일반화된 불안 장애를 포함하는 임상적으로 유의미한 정신질환 사안의 증거 또는 병력을 갖는 대상체; (7) 160 mm Hg 초과 또는 90 mm Hg 미만 스크리닝에서 수축 혈압; (8) 110 mm Hg 초과 또는 50 mm Hg 미만 스크리닝에서 심장 확장 혈압; (9) 임상적으로 유의미한 심혈관 질환 또는 혈관 허혈 (예컨대 심근, 신경적 [예를 들면, 뇌 허혈], 말초 극도 허혈, 또는 다른 허혈성 질병]의 이력; (10) 잘라낸 기저 세포 암 종을 갖는 대상체를 예외로, 암의 과거 또는 현재 이력; (11) 임신 또는 수유 여성; (12) 단클론성 항체를 포함하는, 주사된 단백질에 대한 과민성 반응의 이력; (13) 연구 참가의 30 일 이내 조사 약물로 치료; (14) 동정지  $> 2$  초를 포함하는, 기준선 12-선도 표면 ECG에서 임상적으로 유의미한 비정상, 2 또는 3 도 심장 블록 또는 조사자에 의해 임상적으로 유의미하게 판단된 다른 비정상. (15) 스크리닝에서 남성에 대해 QTcF  $> 450 \text{ msec}$  및 여성에 대해 470 msec (만일 QTcF가 상기 값을 초과하면, ECG는 반복되었고 그리고 3개 QTcF 값의 평균은 잠재적인 대상체의 적격성을 결정하기 위해 사용하였음; 프리데리시아 계산을 이용하여 수득된 QTc)를 증명하는 기준선 12-선도 ECG; (16) 혈액학 값, 혈액 화학, 응고 시험 또는 요검사를 포함하는, 조사자의 판단에서, 임상적으로 유의미하게 비정상인 임의의 조사결과 (비정상 시험은 확인을 위해 반복되도록 허용되었다); (17) 반복 시험에서 확인후 정상 상한치 (ULN)  $> 1.3$  배인 간 효소 (알라닌 아미노기전달효소 [ALT], 아스파르테이트 아미노기전달효소 [AST], 알칼리성 포스파타제); (18) ULN  $> 1.5$  배인 혈청 크레아티닌, 임상적으로 유의미한 단백뇨 (소변 딥스틱 +4) 또는 신장 질환의 증거.

만성적 편두통 그리고 도입 기간 동안 매일 두통 일기에 고 순응성을 갖는 것으로 확인된 대상체는 방문 2 (일 1)에 3개의 처리 아암 중 하나로 무작위화되었다. 무작위화는 전자 상호작용하는 웹 반응 시스템을 이용하여 수행되었다. 대상체는 성별 및 기준선 편두통 약물 사용에 기반하여 계층화되었다. 치료는 3-개월 기간에 걸쳐 총 3 치료에 대해 매달 (매 28 일) 1 회 투여되었다. 치료 투여는 방문 2 (일 1; 제1 용량), 방문 3 (일 29; 제2 용량), 및 방문 4 (일 57; 제3 및 최종 용량)에서 발생하였다. 최종 연구 출구 평가는 방문 5 (일 85), 대략 28 일 그 다음 제3 및 최종 용량에서 수행되었다. 주사는 각각의 하기 그룹에서 대상체에 3-개월 기간 (매 28 일)

에 걸쳐 피하로 투여되었다: (1) 매 28 일 4개 활성 주사를 받은 900 mg 아암에 무작위화된 것; (2) 제1 치료를 위해 3개 활성 및 1개 위약 주사, 및 제2 및 제3 치료를 위해 1개 활성 및 3개 위약 주사를 받는 675/225 mg 아암에 무작위화된 것; (3) 매 28 일 4개 위약 주사를 받는 위약에 무작위화된 것. 활성 주사는 225 mg의 항체 G1 을 함유하였다. 종료점은 전자 매일 두통 일기, 이전의 24-시간 기간 동안 데이터를 기록한 웹-기반 상호작용하는 시스템으로부터 유도되었다. 전반적인 두통 지속시간은 수치로, 시간으로, 뿐만 아니라 중증도의 각각의 수준에서 두통이 있는 시간의 수로 기록되었다. 두통 중증도는 하기와 같이 사전규정된 시점에서 대상체의 의해 주관적으로 등급화되었다: 통증 없음, 경도 통증, 중간 정도의 통증, 및 중증 통증. 대상체는 또한 하기 관련 증상이 사전규정된 시점에서 존재하거나 부재인지를 기록하도록 요청된다: 광선공포증, 음성공포증, 메스꺼움, 및 구토. 추가의 종료점은 연구의 과정 전반에 걸쳐 연구 대상체에 의한 급성 항-두통 약물로서 사용 트립탄(예를 들면, 수마트립탄)으로부터 유도되었다. 연구에서 대상체의 성향 및 인구통계의 요약은 표 9에서 제공된다.

### 표 9

[0469]	위약	675/225 mg	900 mg	총
무작위	89	88	87	264
완료	77 (86.5%)	72 (81.8%)	76 (87.4%)	225
ITT로서 분석	89 ( 100%)	87 (98.9%)	85 (97.7%)	261 (98.9%)
안전성 분석	89 ( 100%)	88 ( 100%)	86 (98.9%)	263 (99.6%)
완벽하지 않음	12 (13.5%)	16 (18.2%)	11 (12.6%)	39 (14.8%)
나이 (년 의미)	40.7	40	41.5	40.75
% 여성	85.4%	86.3%	86.2%	85.9%
편두통을 갖는 해	20.4	15.8	18.7	18.3

[0470] 각각의 그룹에 대하여 각각의 주 1, 2 및 3 (W1, W2, 및 W3, 각각)에서 기준선에 비해 두통 시간의 수에서의 평균 감소는 도 15에서 그래프로 나타난다. 결과는 맨 첫주를 포함하여 각각의 W1, W2 및 W3에서 위약 그룹에 비해 모든 치료 그룹에서 유의미한 감소를 보여준다.

[0471] 각각의 그룹에 대하여 각각의 개월 1, 2, 및 3 (M1, M2, 및 M3, 각각)에서 기준선에 비해 두통 시간의 수에서의 평균 감소는 도 12에서 그래프로 나타난다. 결과는, 맨 첫 용량 이후를 포함하는, 모든 3개 시점에서 위약 그룹에 비해 모든 치료 그룹에서 유의미한 감소를 보여준다. 도 12에서 데이터에 대하여 위약 그룹에 비해 통계적 유의도는 표시된 p-값으로 제공된다.

[0472] 기준선에서, 및 방문 2, 3, 및 4 (V2, V3, 및 V4, 각각)에서 각각의 그룹내 두통 시간의 평균 수는 도 13에서 그래프로 나타난다. 결과는, 매 첫 용량 이후를 포함하는, 모든 3개 시점에서 위약 그룹에 비해 모든 치료 그룹에서 유의미한 감소를 보여준다.

[0473] 각각의 그룹에 대하여 각각의 개월 1, 2, 및 3 (M1, M2, 및 M3, 각각)에서 기준선에 비해 보통 또는 중증 세기의 두통 일의 수에서의 평균 감소는 도 14에서 나타난다. 결과는, 맨 첫 용량 이후를 포함하는, 모든 3개 시점에서 위약 그룹에 비해 모든 치료 그룹에서 통계적으로 유의미한 감소를 보여준다. 위약 그룹에 비해 통계적 유의도는 표시된 p-값으로 제공된다.

[0474] 각각의 그룹에 대하여 각각의 개월 1, 2, 및 3 (M1, M2, 및 M3, 각각)에서 기준선에 비해 급성 응급 약물로서 트립탄의 사용의 수에서의 평균 감소는 도 16에서 그래프로 나타난다. 결과는, 맨 첫 용량 이후를 포함하는, 모든 3개 시점에서 위약 그룹에 비해 모든 치료 그룹에서 트립탄 사용에서 유의미한 감소를 보여준다. 위약 그룹에 비해 통계적 유의도는 도 16에서 표시된 p-값으로 제공된다.

[0475] 두통 시간의 수에서의 유의미한 감소는 또한 위약 그룹에 비해 예방 약물 (예를 들면, 토피라메이트 및 아미트립틸린 또는 프로프라놀롤)을 이용한 대상체에서 관측되었다.

[0476] 모든 용량은 잘 용인되었고, 그리고 안전성 사안은 부각되지 않았다. 그룹에 의한 치료후 발생하는 유해 사례 (TEAE)의 요약은 표 10에서 제공된다. 관련된 TEAE에서의 차이는 주사 관련된 경도 질병 (홍반, 일부 불편)에 의해 거의 완전히 설명된다. 심각한 TEAE는 약물과 관련되지 않았다 (약물-관련된 유해 사례 없음).

표 10

	위약 N (%)	675/225 mg N (%)	900 mg N (%)
TEAE	36 (40.4)	47 (53.4)	41 (47.7)
관련된 TEAE	15 (16.9)	25 (28.4)	28 (32.6)
심각한 TEAE	1 (1.1)	1 (1.1)	2 (2.3)
불연속 유발 TEAE	1 (1.1)	6 (6.8)	5 (5.8)
사망	0	0	0

[0478] 실시예 18: 항체 G1의 임상 연구에서 높은-빈도 간헐적 편두통의 예방

[0479] 항-CGRP 항체 G1을 위약과 비교하는 다중중심, 무작위의, 이중맹검, 위약 대조된, 평행-그룹 연구는 높은-빈도 간헐적 편두통 (HFEM)이 있는 대상체에서 수행되었다. 연구 설계는 실시예 17 의 것을 따랐고, 2개 차이가 있었다. 첫째로, 포함 기준 (3)은, 하기와 같이 높은 빈도로 편두통을 경험하는, Second Edition of The International Headache Society (Olesen and Steiner 2004)에 따라 간헐적 편두통에 대한 기준을 이행하는 대상체에 대한 것이다: (a) 스크리닝에 앞서 적어도 3 개월 동안 달마다 8 일 초과에 두통의 이력; (b) 8 내지 14 일에 (임의의 유형의) 두통을 증명하는 28-일 도입 단계 동안 장기적으로 수집된 기준선 정보를 통한 두통 빈도의 입증 (적어도 8 일은 하기 중 적어도 하나에 대한 기준을 이행한다: (i) 편두통, (ii) 정황적 편두통, 또는 (iii) 트립탄 또는 맥각 화합물의 사용). 둘째로, 복용 계획은 G1을 받는 그룹에 대하여 변화되었다. 특이적으로, 주사는 각각의 하기 그룹에서 대상체에게 3-개월 기간 (매 28 일)에 걸쳐 피하로 투여되었다: (1) 매 28 일 675 mg의 G1을 받는 675 mg 아암에 무작위화된 것; (2) 매 28 일 225 mg의 G1을 받는 225 mg 아암에 무작위화된 것; 및 (3) 매 28 일 위약 주사를 받는 위약에 무작위화된 것. 연구에서 대상체의 성향 및 인구통계의 요약은 표 13에서 제공된다. 연구의 종료점은 편두통 일의 수에서의 감소 및 임의의 중증도의 두통 일의 수에서의 감소를 포함하였다.

표 13

	위약	225 mg	675 mg	총
무작위	104	96	97	297
ITT로서 분석	104 (100%)	95 (99%)	96 (99%)	295 (99%)
안전성 분석	104 (100%)	96 (100%)	97 (100%)	297 (100%)
나이 (년 의미)	42.0	40.8	40.7	41.2
% 여성	88%	91%	85%	88%
% 백인	82%	77%	76%	78%

[0481] 각각의 그룹에 대하여 각각의 개월 1, 2, 및 3 (M1, M2, 및 M3, 각각)에서 기준선에 비해 편두통 일의 수에서의 평균 감소는 도 17에서 나타난다. 결과는, 맨 첫 용량 이후를 포함하는, 모든 3개 시점에서 위약 그룹에 비해 모든 치료 그룹에서 통계적으로 유의미한 감소를 보여준다. 위약 그룹에 비해 통계적 유의도는 표시된 p-값으로 제공된다.

[0482] 각각의 그룹에 대하여 각각의 개월 1, 2, 및 3 (M1, M2, 및 M3, 각각)에서 기준선에 비해 임의의 중증도의 두통 일의 수에서의 평균 감소는 도 18에서 나타난다. 결과는, 맨 첫 용량 이후를 포함하는, 모든 3개 시점에서 위약 그룹에 비해 모든 치료 그룹에서 통계적으로 유의미한 감소를 보여준다. 위약 그룹에 비해 통계적 유의도는 표시된 p-값으로 제공된다.

[0483] 모든 용량은 잘 용인되었고, 그리고 안전성 사안은 부각되지 않았다. 그룹에 의한 치료후 발생하는 유해 사례 (TEAE)의 요약은 표 14에서 제공된다. 4가지 심각한 TEAEs는 종아리뼈 균열의 한 경우 때문이었고, 떨림의 한 경우는 약물 중단 때문이었고 2개의 편두통 사례는 응급실 (ER) 치료를 필요로 하였다.

## 표 14

	위약 N (%)	225 mg N (%)	675 mg N (%)
<b>TEAE</b>	58 (56)	44 (46)	57 (59)
<b>관련된 TEAE</b>	24 (23%)	26 (27%)	24 (25%)
<b>심각한 TEAE</b>	0	2 (2%)	2 (2%)
<b>관련된 심각한 TEAE</b>	0	0	0
<b>불연속 유발 TEAE</b>	0	4 (4%)	2 (2%)
<b>사망</b>	0	0	0

[0485] 실시예 19: 비-임상 안전성

항체 G1의 안전성을 평가하는 2개의 연구는 사이노몰구스 원숭이에서 수행되었다. 제1 연구에서, 항체 G1의 단회 용량의 안전성이 평가되었다. 제2 연구에서, 항체 G1의 반복된 용량의 안전성이 평가되었다. 각각의 상기 연구 및 그 결과는 추가로 아래 상세히 기재된다. 양쪽 단일 및 반복-용량 연구에 대하여, 항체 G1은 20 mM 히스티딘, 84 mg/mL 트레할로오스 디히드레이트, 0.2 mg/mL 폴리소르베이트 80, 0.05 mg/mL 디나트륨 EDTA 디히드레이트 및 0.1 mg/mL L-메티오닌, pH ~5.5에서 51.4 mg/mL 용액으로서 제형화되었다. 비히클은 항체 G1 없이 동일하게 제형화되었다. 추가로, 양쪽 연구에서, 혈액 샘플은 입증된 ELISA 방법을 이용하여 항체 G1 혈장 농도의 분석을 위해 주기적으로 선택되었다.

데이터는 GraphPad Prism (버전 6.0) 및 Excel 2010 (Microsoft)을 이용하여 요약 표 및 도에서 먼저 종합되었다. 단일 노출 연구를 위해, 원격 데이터는 ANOVA를 이용하여 분석되었다. 분석은 SAS Release 8.2를 이용하여 수행되었다. R-R 간격의 범위에 걸쳐 QT 간격을 정상화하기 위해, 개별 동물 수정 인자 (IACFs)는 각각의 RR-간격을 그 관련된 QT-간격과 관련함으로써 각각의 동물에 대하여 발생되었다. 상기 QT/RR-간격 관계의 선형회귀는 데이터 세트를 위하여 결정되었다. 상기 선형회귀의 경사는 모든 치료에 걸쳐 관련된 동물을 위한 IACF로서 사용되었다. 상기 IACF는 하기 방정식을 이용하여 수정된 QT-간격 (QTc)을 계산하는데 사용되었다:

$$QT-I(c) = \text{심박수를 위하여 수정된 QT 간격} = QT-I - [(RR - 300)*(IACF)].$$

다중-용량 연구를 위하여, 1방식 ANOVA는 또한 데이터를 분석하는데 사용되었다. 만일 ANOVA가 유의미하면 ( $P \leq 0.05$ ), 던넷 후-시험은 중간 그룹 비교를 위하여 사용되었다. 각각의 성별을 위하여, 처리된 그룹은 5% 2-꼬리 개연성 수준에서 대조군 (비히클) 그룹과 비교되었다.

## [0490] 단일-용량 원격 연구

8마리 성체 수컷 사이노몰구스 원숭이 (찰스 리버 영장류)는 텔레미터로 수술적 계장화되었고 적어도 2 주 동안 회수되었다. 이식물 (DSI TL11M2-D70-PCT) 및 리시버 (RMC-1)는 Data Sciences International에 의해 제조되었다.

동물은 투여에 앞서 적어도 밤새 원격 데이터 수집 케이지에 순응되었다. 순응 동안, 혈류역학 파라미터의 사전-연구 기록은 변환기 및 장비가 정확하게 기능되는 것을 입증하기 위해 수행되었다. 원격측정된 데이터 수집 동안, 동물은 원격측정 리시버가 구비된 케이지에서 개별적으로 수용되었다. 비-수집 일에, 동물은 원격측정 리시버 없이 케이지에서 수용되었다. 동물은 12-시간 명, 12-시간 암 일 주기에 임의로 물로 유지되었고 보증된 영장류 다이어트로 공급되었다.

연구의 제1 단계를 위하여, 동물 (8 수컷)은 비히클만 투여되었고, 그리고 원격측정 데이터는 투여전 ~1 시간부터 투여후 22 시간 동안 수집되었다. 비히클 투여 후 6 일, 동일한 동물을 항체 G1 (100 mg/kg, 사이노몰구스 원숭이에서 약리적 EC50 보다 ~10-배 더 큰 용량)의 단일 IV 투여를 받았다. 원격측정된 심전계 및 혈류역학 데이터는 다시 계속해서 모든 동물로부터 기록되었다. 또한, 상기 동물은 항체 G1의 그 단회 용량 수용 이후 일 3, 7, 10 및 14에 ~24 시간 동안 모니터링되었다. 원격측정된 ECG 및 혈압 신호는 이식된 무선-원격측정 디바이스를 통해 각각의 케이지에서 탑재된 리시버로 전달되었다. 획득된 신호는 데이터 교환 매트릭스 (DSI 모델 DEM)를 통해 그리고 PC-기반 데이터 수집 시스템 (DSI 소프트웨어 Ponemah P3 버전 3.4)에 통과되었고; 데이터 분석 소프트웨어는 Emka Technologies 버전 2.4.0.20 (Emka Technologies). 유사체/디지털 샘플링 비율은 원격측정된 ECG 데이터에 대하여 1,000 Hz 및 혈압 데이터에 대하여 500 Hz이었다. 데이터는 1 분 평균으로서 기록

되었다.

[0494] 그룹 평균 수축 혈압 (SBP)은 투여 이후 제1 일 전반에 걸쳐 그리고 차후의 일 (제1일로서 동일한 시간 간격에서 제3, 제7, 제10 및 제14일에 원격측정된 동물)에 항체 G1을 이용한 치료 이전 및 이후 유사하였다. 항체 G1 혈액 농도가 최대 수준인 (4 시간에서 3,500  $\mu\text{g/mL}$ 의 평균 농도) 경우 1-4 복용후 시간에서, 평균 SBP는 동시에 간격 그 다음 비히를 투여에서 113 mmHg과 비교된 111 mmHg이었다. 더욱이, SBP는 항체 G1 투여 이후 일 3 및 7에 110 mmHg, 일 10에 109 mmHg 및 제14일에 110 mmHg이었다. 유사한 SBP 데이터는 다른 시간 간격에 대하여 기록되었다. 이것이 교차혼합 설계된 연구이었기 때문에, 처리된 동물은 그들 자신의 대조군으로서 작용하였다. 데이터가 비히를 치료와 비교된 항체 G1 투여 이후 혈압에서의 차이로서 분석되는 경우, 일 7, 10 및 14에 후 시간 간격으로 SBP에서 약간의 통계적으로 유의미한 감소가 있다.

[0495] 항체 G1을 이용한 치료에 따라, 심장확장 혈압 (DBP)은 비히를 투여 이후 수득된 평균 값보다 약 3 mmHg 낮음이 주목되었다. 시간 5-22로부터, 비히를에 대한 그룹 평균 및 항체 G1 그룹은 유사하였다. (2.62-3.5 mmHg 범위의) DBP에서의 약간의 감소가 측정된 제1 간격에서 발생하는 경우, 동일한 추세는 다른 일에 보여주었고, 유사한 규모의 몇몇 변화는 7-22 시간 간격으로 일 7-10에 산발적으로 보여졌다. DBP에 대해 보여진 것과 유사하게, 심박수에서 작은 감소는 비히를 치료에 비해 제1 평가 (시간 1-4) 동안 보여졌다. 차이는 중간체 평가 동안 검출불가능하였고 그리고 모든 일에 시간 18-22 사이에 한번 더 보여졌다.

[0496] 게다가, ECG 조사결과에 대해, 비히를 치료에 비해 임의의 시점에서 QTc 간격으로 통계적으로 유의미한 변화는 없었다. 비히를과 비교되는 경우 비록 RR, PR, RS 및 QT에서 통계적으로 유의미한 변화가 14 일 기간에 걸쳐 보여져도, 이들은 절대값으로 모두 음성이었다.

#### 반복-용량 안전성 연구

[0498] 반복-용량 안전성 연구는 48 성체, 성별-매칭된 (그룹마다 성별마다 6) 항체 G1-미접촉 사이노몰구스 원숭이 (찰스 리버 영장류)를 포함하였다. 동물은 10 mg/kg, 100 mg/kg, 또는 300 mg/kg의 용량으로 14 주 동안 매주 1회 정맥내 주사로서 비히를 또는 항체 G1을 받았다. 각 그룹에서, 각각의 성별의 2마리 동물은 추가의 4 개월 동안 회수되었고 그 다음 투여 종료되었다.

[0499] ECG 및 혈압 측정은 사전-연구 단계 동안 1회 기록되었고, 정상상태 이후 2회 (투여에 앞서 및 일 85에 4 시간 투여후) 및 투여 종료 이후 ~1 주 1회 (회복 단계의 제103일)가 달성되었다. 동물은 캐타민으로 마취되었고 ECG는 8개 리드(lead)를 이용하여 기록되었다. (심박수 포함) ECGs 의 측정은, 표준으로서 선도 I, II, aVF, CG4RL 및 CV4LL을 이용하여, DSI를 통해 Life Science Suite Ponemah Physiology Platform 소프트웨어 시스템을 이용하여 포착된 데이터로 실시되었다. QT 간격 (QTc)에 대한 심박수 수정은 바겟트식을 이용하여 계산되었다.

[0500] 혈압은 제1 용량에 앞서, 투여 (13 용량) 12 주 이후 및 투여 종료 이후 대략 1 주에 기록되었다. 유의미한 변화는 비히를-처리된 동물에 비해 동물의 임의의 처리된 그룹에서 SBP 또는 DBP로 주목되었다. 그룹 평균 심박수는, 측정된 통계적인 차이 없이, 측정된 용량 그룹 및 시점을 거쳐 상대적으로 일치되었다. 항체 G1의 혈장 농도는 투여의 제1 주 동안 및 혈압 및 ECG 평가의 시간에 측정되었고, 반복된, 매주 투여로 축적을 증명하였다.

[0501] 게다가, ECG 조사결과에 대해, 모든 용량 및 시점을 거쳐 QTc 간격에서 유의차가 없었다. 추가로, 유의미한 또는 관련된 ECG 변화는 연구의 과정에 걸쳐 평가된 임의의 ECG 파라미터에 대하여 보여지지 않았다.

[0502] 요약하면, 항체 G1은 양쪽 연구에서 매우 양호하게 용인되었고, 임상적으로 유의미한 변화가 임의의 혈류역학 파라미터로 표시되지 않았고, 임의의 관련된 변화가 임의의 ECG 파라미터에서 표시되지 않았다. 사이노몰구스 원숭이에서, 심혈관 및 혈류역학 파라미터는 항체 G1으로 CGRP의 장기간 저해에 의해 영향받는 것으로 보이지 않는다.

[0503] 본원에 기재된 실시예 및 구현예가 단지 설명을 위한 것이고 그 점에서 다양한 변형 또는 변화가 당해분야의 숙련가에게 제안될 것이고 그리고 본 출원의 사상 및 영역 내에 포함되는 것으로 이해된다. 마치 각각의 개별적인 공보, 특히 또는 특허 출원이 참고로 편입됨을 특이적으로 및 개별적으로 나타내는 것처럼 동일한 정도로 다목적으로 본원에 인용된 모든 공보, 특히 및 특허 출원은 이로써 그 전체가 참고로 편입된다.

#### 생물학적 물질의 기탁

[0505] 하기 물질은 미국 종균 협회, 10801 University Boulevard, Manassas, Virginia 20110-2209, USA (ATCC)에 기탁되어 있다:

물질	항체 번호	ATCC 수탁 번호	기탁일
pDb.CGRP.hFcGI	G1 중쇄	PTA-6867	2005년 7월 15일
pEb.CGRP.hKGI	G1 경쇄	PTA-6866	2005년 7월 15일

[0506]

벡터 pEb.CGRP.hKGI는 G1 경쇄 가변 영역 및 경쇄 카파 불변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드이고; 그리고 벡터 pDb.CGRP.hFcGI는 하기 돌연변이를 함유하는 G1 중쇄 가변 영역 및 중쇄 IgG2 불변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드이다: A330P331 내지 S330S331 (야생형 IgG2 서열을 참조로 아미노산 넘버링; 참고 Eur. J. Immunol. (1999) 29:2613-2624).

[0508]

상기 기탁은 특히 절차와 그 아래 (부다페스트 조약) 규제의 목적을 위한 미생물의 기탁의 국제 인식에 관한 부다페스트 조약의 전제하에 작성되었다. 이것은 수탁일로부터 30년 동안 기탁의 생존가능 배양의 유지를 장담한다. 기탁은 부다페스트 조약의 용어들로 ATCC에 의해 이용가능하게 작성될 것이고, 그리고 Rinat Neuroscience Corp. 와 ATCC 사이의 합의에 따르고, 이는 적절한 미국 특허의 발행시 또는 임의의 미국 또는 외국 특허 출원의 공공에 공개시 먼저 발생하는 수탁의 배양의 자손의 영구적 및 비제한된 이용가능성을 장담하고, 그리고 35 USC 섹션 122에 따라 그에 명명된 미국 특허 및 상표 위원 및 (특정 참조 886 OG 638로 37 CFR 섹션 1.14 포함) 그에 따른 위원의 규칙에 의해 결정된 것에 대한 자손의 이용가능성을 장담한다.

[0509]

본원의 수탁자는 만일 수탁시 물질의 배양물이 적당한 조건하에서 배양된 경우 죽거나 손실 또는 파괴되면, 물질이 통지시 동일한 또 다른 것으로 즉시 대체될 것임에 동의하였다. 수탁된 물질의 이용가능성은 그 특허법에 따른 임의의 정부의 권한하에 승인된 권리에 위반해서 본 발명의 실시에 대한 허가로서 해석되지 않아야 한다.

#### 항체 서열

G1 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 (서열식별번호:1)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWISWVRQAPGKGLEWVAEIRSESDASATHYAEAVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCLAYFDYGLAIQNYWGQGTLVTVSS

G1 경쇄 가변 영역 아미노산 서열 (서열식별번호:2)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASKRVTYYVSWYQQKPGQAPRLLIYGASNRYLGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCSQSYNPYTFGQGTTKLEIK

G1 CDR H1 (확장된 CDR) (서열식별번호:3)

GFTFSNYWIS

G1 CDR H2 (확장된 CDR) (서열식별번호:4)

EIRSESDASATHYAEAVKG

G1 CDR H3 (서열식별번호:5)

YFDYGLAIQNY

G1 CDR L1 (서열식별번호:6)

KASKRVTYYVS

G1 CDR L2 (서열식별번호:7)

GASNRYL

G1 CDR L3 (서열식별번호:8)

SQSYNPY

G1 중쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (서열식별번호:9)

GAAGTTCAGCTGGTGAATCCGGTGGTCTGGTCAGCCAGGTGGTCCCTGCGTCTGCTCTGCGCTGCTCCGGTTCACCTTCTCCAACACTACTGGATCTCTGGGTTCGTCAGGCTCCTGGAAAGGTCTGGAATGGGTGCTGAAATCCGTTCCGAATCCGACGCCGCTACCCATTACGCTGAAGCTGTTAAAGGTCGTTACCATCTCCCGTGACAAACGCTAAGAACCTCCCTGTACCTGCAGATGAACCTCCCTGCGTGCTGAAGACACCGCTGTTACTACTGCCTGGCTACTTT

GACTACGGTCTGGCTATCCAGAACTACTGGGTCAGGGTACCCCTGGTTACCGTTCC

[0529] G1 경쇄 가변 영역 뉴클레오타이드 서열 (서열식별번호:10)

[0530] GAAATCGTCTGACCCAGTCCCCGCTACCTGTCCTGCCCCAGGTGAACGTGCTACCCGTCTGCAAAGCTTCAAACGGTTACCACCTACGTTCC  
TGGTACAGCAGAAACCGGTCAAGCTCTCGTCTGATCTACGGTCTTCAACCGTTACCTCGGTATCCAGCTCGTTCTCCGGTCCGGTCCGGT  
ACCGACTTCACCCCTGACCATCTCCTCCCTGGAACCCGAAGACTTCGCTGTTACTACTGCAGTCAGTCCTACAACCTACCCCTACACCTCGGTACGGTAC  
AAACTGGAAATCAA

[0531] G1 중쇄 완전 항체 아미노산 서열 (본원에 기재된 바와 같이 변형된 IgG2 포함) (서열식별번호:11)

[0532] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWISWVRQAPGKGLEWVAEIRSESADASATHYAEAVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCLAYF  
DYGLAIQNYWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYT  
CNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPVAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTPREEQFNSTFRVVS  
LTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIETKISKTKQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMULDGSFFLY  
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHTQKSLSLSPGK

[0533] G1 경쇄 완전 항체 아미노산 서열 (서열식별번호:12)

[0534] EIVLTQSPATLSPGERATLSCKASKRVTYYVSWYQQKPGQAPRLIYGASNRYLGIPARFSGSGSGTDFLTISSLPEDFAVYYCSQSINYPTFGQGT  
KLEIKRTVAAPSFIGPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTKADYEHKVYACEVTHQGLSSP  
VTKSFNRGEC

[0535] G1 중쇄 완전 항체 뉴클레오타이드 서열 (본원에 기재된 바와 같이 변형된 IgG2 포함) (서열식별번호:13)

[0536] ACAGCCAAGAGAGGCCACAGGTGTATACCCCTGCCCTCATCCAGAGAGGAGATGACCAAGAACAGGTGTCCTGACCTGTGGTGAAGGGATTCTATCCATC  
CGACATGCCGTGGAGTGGAGTCCAACGGACAGCCAGAGAACAACTATAAGACCACCCCTCAATGCTGGACTCCGACGGATCCTCTCCGTATTCAA  
GCTGACCGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGAAACGTGTTCTCTGTTCCGTATGCACGAGGCCCTGCACAACCAACTACCCAGAACGCTGTCCCT  
GTCTCCAGGAAAGTAA

[0537] G1 경쇄 완전 항체 뉴클레오타이드 서열 (서열식별번호:14)

[0538] GAAATCGTCTGACCCAGTCCCCGCTACCTGTCCTGCCCCAGGTGAACGTGCTACCCGTCTGCAAAGCTTCAAACGGTTACCACCTACGTTCC  
TGGTACAGCAGAAACCGGTCAAGCTCTCGTCTGCTGATCTACGGTCTTCAACCGTTACCTCGGTATCCAGCTCGTTCTCCGGTCCGGTCCGGT  
ACCGACTTCACCCCTGACCATCTCTCCCTGGAACCCGAAGACTTCGCTGTTACTACTGCAGTCAGTCCTACAACCTACCCCTACACCTCGGTACGGTACC  
AAACTGGAAATCAAACGCACTGTGGCTGCACCATCTGTCATCTCCCTCCATCTGATGAGCAGTTGAATCCGGAACCTGCCTCTGTTGTGCGCTGCTG  
ATAACTCTATCCGCGGAGGCAAAGTACAGTGGAAAGTGGATAACGCCCTCAATCCGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGAC  
AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACCCGTAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGTTCTCCA  
GTCACAAAGAGCTCAACCGCGGTGAGTGTAA

[0539] 인간 및 랫트 CGRP (인간  $\alpha$ -CGRP (서열식별번호:15); 인간  $\beta$ -CGRP (서열식별번호:43); 랫트  $\alpha$ -CGRP (서열식별번호:41); 및 랫트  $\beta$ -CGRP (서열식별번호:44))의 아미노산 서열 비교:

NH2-ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF-CONH2 (인간  $\alpha$ -CGRP)

NH2-ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNSNFVPTNVGSKAF-CONH2 (인간  $\beta$ -CGRP)

NH2-SCNTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKDNFVPTNVGSEAF-CONH2 (랫트  $\alpha$ -CGRP)

NH2-SCNTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKDNFVPTNVGSKAF-CONH2 (랫트  $\beta$ -CGRP)

[0540]

[0541] 경쇄 가변 영역 LCVR17 아미노산 서열 (서열식별번호: 58)

[0542] DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQDIDNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSEYHSGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQGDALPPFGQGT

KLEIK

[0543] 중쇄 가변 영역 HCVR22 아미노산 서열 (서열식별번호: 59)QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFGNWYWMQWVRQAPGQGLEWMGAIYEGTGDTRYIQKFAGRVTMTRDTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARLSDY  
VSGFSYWGQGTLTVSS[0545] 경쇄 가변 영역 LCVR18 아미노산 서열 (서열식별번호: 60)DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIDNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSEYHSGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQGDALPPTFGQGT  
KLEIK[0547] 중쇄 가변 영역 HCVR23 아미노산 서열 (서열식별번호: 61)QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFGNWYWMQWVRQAPGQGLEWMGAIYEGTGKTVYIQKFAGRVTMTRDTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARLSDY  
VSGFSYWGQGTLTVSS[0549] 경쇄 가변 영역 LCVR19 아미노산 서열 (서열식별번호: 62)DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASKDISKYLWYQQKPGKAPKLLIYYTSGYHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDALPPTFGGGT  
KVEIK[0551] 중쇄 가변 영역 HCVR24 아미노산 서열 (서열식별번호: 63)QVQLVQSGAEVKPGSSVKVSCKASGYTFGNWYWMQWVRQAPGQGLEWMGAIYEGTGKTVYIQKFADRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLSDY  
VSGFGYWGQGTTTVSS[0553] 경쇄 가변 영역 LCVR20 아미노산 서열 (서열식별번호: 64)DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPIDKYLWYQQKPGKAPKLLIYYTSEYHSGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDFATYYCQQGDALPPTFGQGT  
KLEIK[0555] 중쇄 가변 영역 HCVR25 아미노산 서열 (서열식별번호: 65)QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFGNWYWMQWVRQAPGQGLEWMGAIYEGTGKTVYIQKFAGRVTMTRDTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARLSDY  
VSGFGYWGQGTLTVSS[0557] 경쇄 가변 영역 LCVR21 아미노산 서열 (서열식별번호: 66)DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIDKYLWYQQKPGKAPKLLIYYTSGYHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDALPPTFGGGT  
KVEIK[0559] 중쇄 가변 영역 HCVR26 아미노산 서열 (서열식별번호: 67)QVQLVQSGAEVKPGSSVKVSCKASGYTFGNWYWMQWVRQAPGQGLEWMGAIYEGTGKTVYIQKFAGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLSDY  
VSGFGYWGQGTTTVSS[0561] 경쇄 가변 영역 LCVR27 아미노산 서열 (서열식별번호: 68)QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFV  
FGGGTKVEIKR[0563] 중쇄 가변 영역 HCVR28 아미노산 서열 (서열식별번호: 69)EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLGGYYMNWVRQAPGKGLEWVGVIGINGATYYASWAKGRFTISRDNSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWG  
QGTLTVSS[0565] 경쇄 가변 영역 LCVR29 아미노산 서열 (서열식별번호: 70)QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFV  
FGGGTKVEIKR[0567] 중쇄 가변 영역 HCVR30 아미노산 서열 (서열식별번호: 71)EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRDNSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWG  
QGTLTVSS

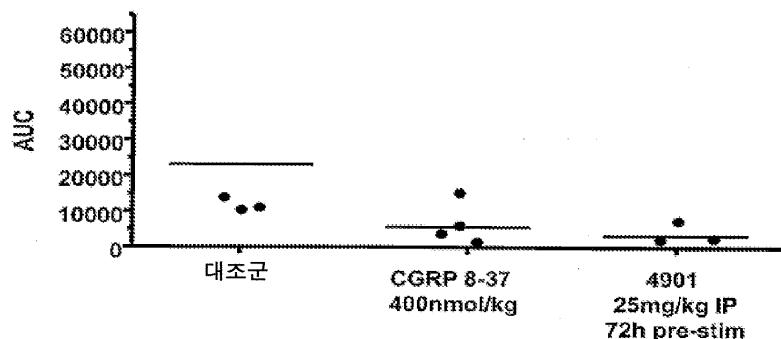
- [0569] 경쇄 가변 영역 LCVR31 아미노산 서열 (서열식별번호: 72)
- [0570] QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFV  
FGGGTKVEIKR
- [0571] 중쇄 가변 영역 HCVR32 아미노산 서열 (서열식별번호: 73)
- [0572] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRDNSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWG  
QGTLTVSS
- [0573] 경쇄 가변 영역 LCVR33 아미노산 서열 (서열식별번호: 74)
- [0574] QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGQPPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFLTISGVQCNDAAAYYCLGSYDCTNGDCFV  
FGGGTEVVVR
- [0575] 중쇄 가변 영역 HCVR34 아미노산 서열 (서열식별번호: 75)
- [0576] QSLEESGGLVTPGPTLTCSVSGIDLGGYMNWVRQAPGKGLEWVGVIGINGATYYASWAKGRFTISKTSSTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPG  
TLTVSS
- [0577] 경쇄 가변 영역 LCVR35 아미노산 서열 (서열식별번호: 76)
- [0578] QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFV  
FGGGTKVEIKR
- [0579] 중쇄 가변 영역 HCVR36 아미노산 서열 (서열식별번호: 77)
- [0580] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLGGYMNWVRQAPGKGLEWVGVIGINGATYYASWAKGRFTISRDNSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWG  
QGTLTVSS
- [0581] 경쇄 가변 영역 LCVR37 아미노산 서열 (서열식별번호: 78)
- [0582] QSVLTQPPSVAAPGKVTISCSGSSNIGNNYVSWYQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSTLGITGLQTGDEADYYCGTWDSRLSAVVF  
GGTKLTVL
- [0583] 중쇄 가변 영역 HCVR38 아미노산 서열 (서열식별번호: 79)
- [0584] QVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSSFGMHWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSIKYSVDSVKGRFTISRDNSKNTFLQMNSLRAEDTAVYFCARDRLN  
YYDSSGYYHYKYYGMAVGQGTTVTVSS

## 도면

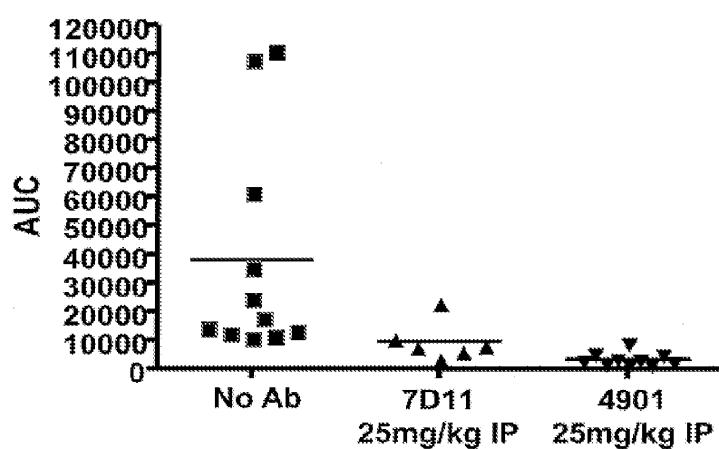
### 도면1

Fab	K <sub>D</sub> (nM)	K <sub>D</sub> (nM)	K <sub>D</sub> (nM)	K <sub>D</sub> (들여변이/모)									
				F27A	V28A	P29A	T30A	N31A	V32A	G33A	S34A	K35A	F37A
7E9	1.37 (WT)	19.37 <sup>a</sup>	25.37 <sup>a</sup>	1.0	1.0	2.6	3	6	41	1226	49	4	1898
8B6	1.1	1.5±0.2	0.43±0.08	1.0	1.0	9	2.2	3	5	496	26	3	2547
10A8	2.1	2.4±1.4	1.0±0.2	1.0	1.0	9	4	4	11	36	82	13	2182
7D11	4.4	10±7	3.4±0.4	1.1	1.0	7	4	5	8	36	18	1.4	470
6H2	9.3	7.8±0.2	8.5±0.5	0.9	1.0	1.0	0.8	4	11	14	0.5	1.0	
49B1	60.5	52±12	296±113	0.8	0.8	0.2	0.2	0.3	0.9	1.3	0.8	0.3	
14E10	79.7	91±3	117.4±0.7	0.8	0.8	11	3	18	2	1	1	0.4 <sup>a</sup>	
9B8	84.7	76±20	96±28	0.8	0.8	0.6	0.6	0.7	0.6	1.3	4	0.4 <sup>a</sup>	
13C2	94.4	86±13	137±5	0.7	0.7	0.5	0.4	0.6	0.2	0.9	1.1	0.4 <sup>a</sup>	
14A9	148.4	219±114	246±20	0.8	0.7	0.7	0.5	0.8	0.7	1.6	1.3	6	
6D5	209.9	207±26	378±22	0.8	0.7	0.5	0.4	0.6	0.5	3	1.1	5	
1C5	296.4	223±51	430±173	0.8	0.8	0.6	0.4	0.6	0.6	1.1	1.1	5	

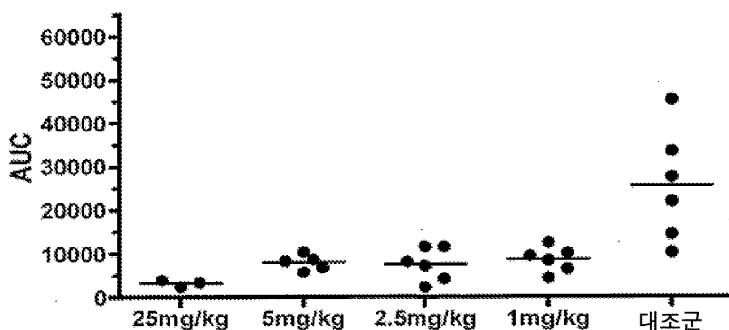
도면2a



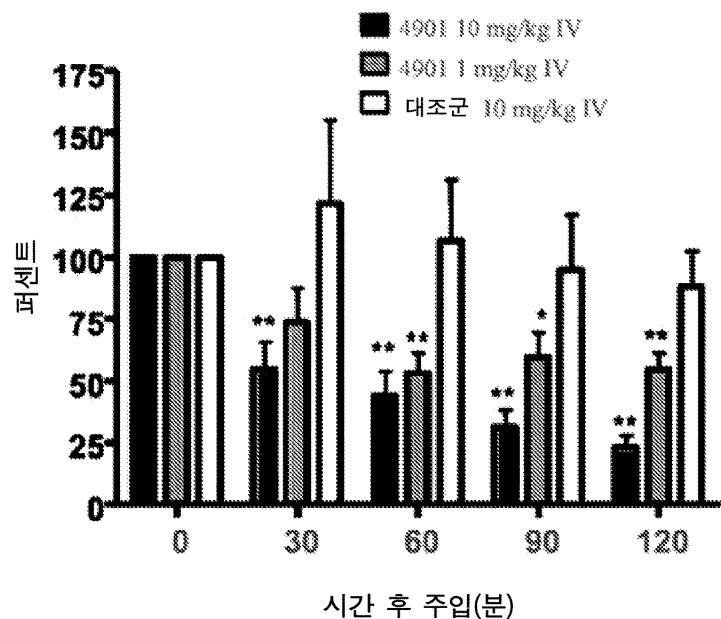
도면2b



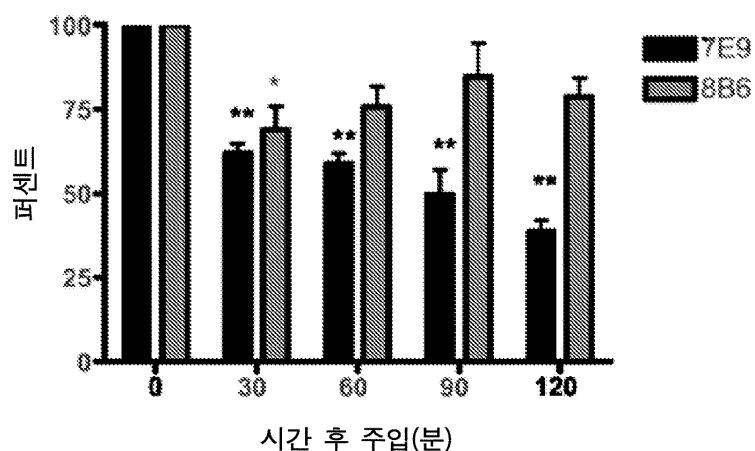
도면3



도면4a



도면4b



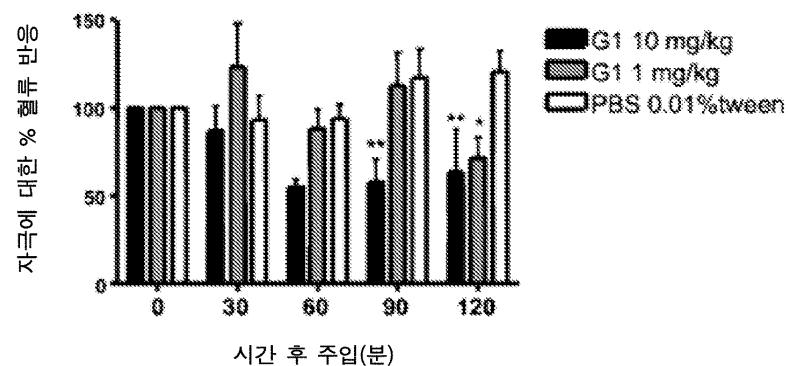
## 도면5

볼드 = 카밧 CDR  
밀줄 = 초티아 CDR

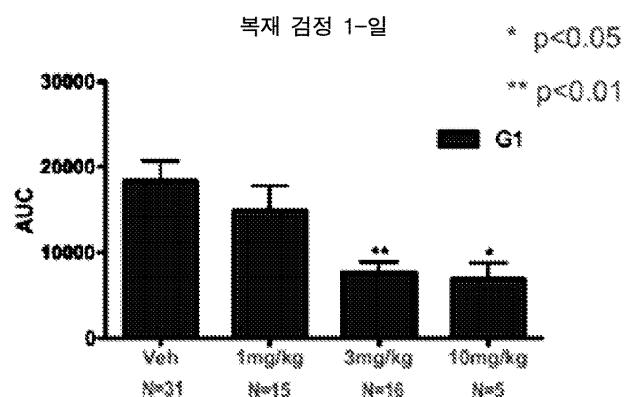
## G1 중쇄

3 8 18 28 38 48 58 68 78 88 98 108 118 128 138 148 158 168 178 188 198 208 218 228 238 248 258 268 278 288 298 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150 160 170 180 190 200 210 220 230 240 250 260 270 280 290  
**E V Q L V S S C C C L V Q P C G S L R L S C A A S G Y T F S**  
**H1**  
 31 32 33 34 35 36 37 38 39 310 311 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349 340 350 351 352 353 354 355 356 357 358 359 350 360 361 362 363 364 365 366 367 368 369 360 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379 370 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 380 390 391 392 393 394 395 396 397 398 399 390 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409 400 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 410 420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 420 430 431 432 433 434 435 436 437 438 439 430 440 441 442 443 444 445 446 447 448 449 440 450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 450 460 461 462 463 464 465 466 467 468 469 460 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479 470 480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 480 490 491 492 493 494 495 496 497 498 499 490 500 501 502 503 504 505 506 507 508 509 500 510 511 512 513 514 515 516 517 518 519 510 520 521 522 523 524 525 526 527 528 529 520 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 530 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 540 550 551 552 553 554 555 556 557 558 559 550 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 560 570 571 572 573 574 575 576 577 578 579 570 580 581 582 583 584 585 586 587 588 589 580 590 591 592 593 594 595 596 597 598 599 590 600 601 602 603 604 605 606 607 608 609 600 610 611 612 613 614 615 616 617 618 619 610 620 621 622 623 624 625 626 627 628 629 620 630 631 632 633 634 635 636 637 638 639 630 640 641 642 643 644 645 646 647 648 649 640 650 651 652 653 654 655 656 657 658 659 650 660 661 662 663 664 665 666 667 668 669 660 670 671 672 673 674 675 676 677 678 679 670 680 681 682 683 684 685 686 687 688 689 680 690 691 692 693 694 695 696 697 698 699 690 700 701 702 703 704 705 706 707 708 709 700 710 711 712 713 714 715 716 717 718 719 710 720 721 722 723 724 725 726 727 728 729 720 730 731 732 733 734 735 736 737 738 739 730 740 741 742 743 744 745 746 747 748 749 740 750 751 752 753 754 755 756 757 758 759 750 760 761 762 763 764 765 766 767 768 769 760 770 771 772 773 774 775 776 777 778 779 770 780 781 782 783 784 785 786 787 788 789 780 790 791 792 793 794 795 796 797 798 799 790 800 801 802 803 804 805 806 807 808 809 800 810 811 812 813 814 815 816 817 818 819 810 820 821 822 823 824 825 826 827 828 829 820 830 831 832 833 834 835 836 837 838 839 830 840 841 842 843 844 845 846 847 848 849 840 850 851 852 853 854 855 856 857 858 859 850 860 861 862 863 864 865 866 867 868 869 860 870 871 872 873 874 875 876 877 878 879 870 880 881 882 883 884 885 886 887 888 889 880 890 891 892 893 894 895 896 897 898 899 890 900 901 902 903 904 905 906 907 908 909 900 910 911 912 913 914 915 916 917 918 919 910 920 921 922 923 924 925 926 927 928 929 920 930 931 932 933 934 935 936 937 938 939 930 940 941 942 943 944 945 946 947 948 949 940 950 951 952 953 954 955 956 957 958 959 950 960 961 962 963 964 965 966 967 968 969 960 970 971 972 973 974 975 976 977 978 979 970 980 981 982 983 984 985 986 987 988 989 980 990 991 992 993 994 995 996 997 998 999 990 1000 1001 1002 1003 1004 1005 1006 1007 1008 1009 1000 1010 1011 1012 1013 1014 1015 1016 1017 1018 1019 1010 1020 1021 1022 1023 1024 1025 1026 1027 1028 1029 1020 1030 1031 1032 1033 1034 1035 1036 1037 1038 1039 1030 1040 1041 1042 1043 1044 1045 1046 1047 1048 1049 1040 1050 1051 1052 1053 1054 1055 1056 1057 1058 1059 1050 1060 1061 1062 1063 1064 1065 1066 1067 1068 1069 1060 1070 1071 1072 1073 1074 1075 1076 1077 1078 1079 1070 1080 1081 1082 1083 1084 1085 1086 1087 1088 1089 1080 1090 1091 1092 1093 1094 1095 1096 1097 1098 1099 1090 1100 1101 1102 1103 1104 1105 1106 1107 1108 1109 1100 1110 1111 1112 1113 1114 1115 1116 1117 1118 1119 1110 1120 1121 1122 1123 1124 1125 1126 1127 1128 1129 1120 1130 1131 1132 1133 1134 1135 1136 1137 1138 1139 1130 1140 1141 1142 1143 1144 1145 1146 1147 1148 1149 1140 1150 1151 1152 1153 1154 1155 1156 1157 1158 1159 1150 1160 1161 1162 1163 1164 1165 1166 1167 1168 1169 1160 1170 1171 1172 1173 1174 1175 1176 1177 1178 1179 1170 1180 1181 1182 1183 1184 1185 1186 1187 1188 1189 1180 1190 1191 1192 1193 1194 1195 1196 1197 1198 1199 1190 1200 1201 1202 1203 1204 1205 1206 1207 1208 1209 1200 1210 1211 1212 1213 1214 1215 1216 1217 1218 1219 1210 1220 1221 1222 1223 1224 1225 1226 1227 1228 1229 1220 1230 1231 1232 1233 1234 1235 1236 1237 1238 1239 1230 1240 1241 1242 1243 1244 1245 1246 1247 1248 1249 1240 1250 1251 1252 1253 1254 1255 1256 1257 1258 1259 1250 1260 1261 1262 1263 1264 1265 1266 1267 1268 1269 1260 1270 1271 1272 1273 1274 1275 1276 1277 1278 1279 1270 1280 1281 1282 1283 1284 1285 1286 1287 1288 1289 1280 1290 1291 1292 1293 1294 1295 1296 1297 1298 1299 1290 1300 1301 1302 1303 1304 1305 1306 1307 1308 1309 1300 1310 1311 1312 1313 1314 1315 1316 1317 1318 1319 1310 1320 1321 1322 1323 1324 1325 1326 1327 1328 1329 1320 1330 1331 1332 1333 1334 1335 1336 1337 1338 1339 1330 1340 1341 1342 1343 1344 1345 1346 1347 1348 1349 1340 1350 1351 1352 1353 1354 1355 1356 1357 1358 1359 1350 1360 1361 1362 1363 1364 1365 1366 1367 1368 1369 1360 1370 1371 1372 1373 1374 1375 1376 1377 1378 1379 1370 1380 1381 1382 1383 1384 1385 1386 1387 1388 1389 1380 1390 1391 1392 1393 1394 1395 1396 1397 1398 1399 1390 1400 1401 1402 1403 1404 1405 1406 1407 1408 1409 1400 1410 1411 1412 1413 1414 1415 1416 1417 1418 1419 1410 1420 1421 1422 1423 1424 1425 1426 1427 1428 1429 1420 1430 1431 1432 1433 1434 1435 1436 1437 1438 1439 1430 1440 1441 1442 1443 1444 1445 1446 1447 1448 1449 1440 1450 1451 1452 1453 1454 1455 1456 1457 1458 1459 1450 1460 1461 1462 1463 1464 1465 1466 1467 1468 1469 1460 1470 1471 1472 1473 1474 1475 1476 1477 1478 1479 1470 1480 1481 1482 1483 1484 1485 1486 1487 1488 1489 1480 1490 1491 1492 1493 1494 1495 1496 1497 1498 1499 1490 1500 1501 1502 1503 1504 1505 1506 1507 1508 1509 1500 1510 1511 1512 1513 1514 1515 1516 1517 1518 1519 1510 1520 1521 1522 1523 1524 1525 1526 1527 1528 1529 1520 1530 1531 1532 1533 1534 1535 1536 1537 1538 1539 1530 1540 1541 1542 1543 1544 1545 1546 1547 1548 1549 1540 1550 1551 1552 1553 1554 1555 1556 1557 1558 1559 1550 1560 1561 1562 1563 1564 1565 1566 1567 1568 1569 1560 1570 1571 1572 1573 1574 1575 1576 1577 1578 1579 1570 1580 1581 1582 1583 1584 1585 1586 1587 1588 1589 1580 1590 1591 1592 1593 1594 1595 1596 1597 1598 1599 1590 1600 1601 1602 1603 1604 1605 1606 1607 1608 1609 1600 1610 1611 1612 1613 1614 1615 1616 1617 1618 1619 1610 1620 1621 1622 1623 1624 1625 1626 1627 1628 1629 1620 1630 1631 1632 1633 1634 1635 1636 1637 1638 1639 1630 1640 1641 1642 1643 1644 1645 1646 1647 1648 1649 1640 1650 1651 1652 1653 1654 1655 1656 1657 1658 1659 1650 1660 1661 1662 1663 1664 1665 1666 1667 1668 1669 1660 1670 1671 1672 1673 1674 1675 1676 1677 1678 1679 1670 1680 1681 1682 1683 1684 1685 1686 1687 1688 1689 1680 1690 1691 1692 1693 1694 1695 1696 1697 1698 1699 1690 1700 1701 1702 1703 1704 1705 1706 1707 1708 1709 1700 1710 1711 1712 1713 1714 1715 1716 1717 1718 1719 1710 1720 1721 1722 1723 1724 1725 1726 1727 1728 1729 1720 1730 1731 1732 1733 1734 1735 1736 1737 1738 1739 1730 1740 1741 1742 1743 1744 1745 1746 1747 1748 1749 1740 1750 1751 1752 1753 1754 1755 1756 1757 1758 1759 1750 1760 1761 1762 1763 1764 1765 1766 1767 1768 1769 1760 1770 1771 1772 1773 1774 1775 1776 1777 1778 1779 1770 1780 1781 1782 1783 1784 1785 1786 1787 1788 1789 1780 1790 1791 1792 1793 1794 1795 1796 1797 1798 1799 1790 1800 1801 1802 1803 1804 1805 1806 1807 1808 1809 1800 1810 1811 1812 1813 1814 1815 1816 1817 1818 1819 1810 1820 1821 1822 1823 1824 1825 1826 1827 1828 1829 1820 1830 1831 1832 1833 1834 1835 1836 1837 1838 1839 1830 1840 1841 1842 1843 1844 1845 1846 1847 1848 1849 1840 1850 1851 1852 1853 1854 1855 1856 1857 1858 1859 1850 1860 1861 1862 1863 1864 1865 1866 1867 1868 1869 1860 1870 1871 1872 1873 1874 1875 1876 1877 1878 1879 1870 1880 1881 1882 1883 1884 1885 1886 1887 1888 1889 1880 1890 1891 1892 1893 1894 1895 1896 1897 1898 1899 1890 1900 1901 1902 1903 1904 1905 1906 1907 1908 1909 1900 1910 1911 1912 1913 1914 1915 1916 1917 1918 1919 1910 1920 1921 1922 1923 1924 1925 1926 1927 1928 1929 1920 1930 1931 1932 1933 1934 1935 1936 1937 1938 1939 1930 1940 1941 1942 1943 1944 1945 1946 1947 1948 1949 1940 1950 1951 1952 1953 1954 1955 1956 1957 1958 1959 1950 1960 1961 1962 1963 1964 1965 1966 1967 1968 1969 1960 1970 1971 1972 1973 1974 1975 1976 1977 1978 1979 1970 1980 1981 1982 1983 1984 1985 1986 1987 1988 1989 1980 1990 1991 1992 1993 1994 1995 1996 1997 1998 1999 1990 2000 2001 2002 2003 2004 2005 2006 2007 2008 2009 2000 2010 2011 2012 2013 2014 2015 2016 2017 2018 2019 2010 2020 2021 2022 2023 2024 2025 2026 2027 2028 2029 2020 2030 2031 2032 2033 2034 2035 2036 2037 2038 2039 2030 2040 2041 2042 2043 2044 2045 2046 2047 2048 2049 2040 2050 2051 2052 2053 2054 2055 2056 2057 2058 2059 2050 2060 2061 2062 2063 2064 2065 2066 2067 2068 2069 2060 2070 2071 2072 2073 2074 2075 2076 2077 2078 2079 2070 2080 2081 2082 2083 2084 2085 2086 2087 2088 2089 2080 2090 2091 2092 2093 2094 2095 2096 2097 2098 2099 2090 2100 2101 2102 2103 2104 2105 2106 2107 2108 2109 2100 2110 2111 2112 2113 2114 2115 2116 2117 2118 2119 2110 2120 2121 2122 2123 2124 2125 2126 2127 2128 2129 2120 2130 2131 2132 2133 2134 2135 2136 2137 2138 2139 2130 2140 2141 2142 2143 2144 2145 2146 2147 2148 2149 2140 2150 2151 2152 2153 2154 2155 2156 2157 2158 2159 2150 2160 2161 2162 2163 2164 2165 2166 2167 2168 2169 2160 2170 2171 2172 2173 2174 2175 2176 2177 2178 2179 2170 2180 2181 2182 2183 2184 2185 2186 2187 2188 2189 2180 2190 2191 2192 2193 2194 2195 2196 2197 2198 2199 2190 2200 2201 2202 2203 2204 2205 2206 2207 2208 2209 2200 2210 2211 2212 2213 2214 2215 2216 2217 2218 2219 2210 2220 2221 2222 2223 2224 2225 2226 2227 2228 2229 2220 2230 2231 2232 2233 2234 2235 2236 2237 2238 2239 2230 2240 2241 2242 2243 2244 2245 2246 2247 2248 2249 2240 2250 2251 2252 2253 2254 2255 2256 2257 2258 2259 2250 2260 2261 2262 2263 2264 2265 2266 2267 2268 2269 2260 2270 2271 2272 2273 2274 2275 2276 2277 2278 2279 2270 2280 2281 2282 2283 2284 2285 2286 2287 2288 2289 2280 2290 2291 2292 2293 2294 2295 2296 2297 2298 2299 2290 2300 2301 2302 2303 2304 2305 2306 2307 2308 2309 2300 2310 2311 2312 2313 2314 2315 2316 2317 2318 2319 2310 2320 2321 2322 2323 2324 2325 2326 2327 2328 2329 2320 2330 2331 2332 2333 2334 2335 2336 2337 2338 2339 2330 2340 2341 2342 2343 2344 2345 2346 2347 2348 2349 2340 2350 2351 2352 2353 2354 2355 2356 2357 2358 2359 2350 2360 2361 2362 2363 2364 2365 2366 2367 2368 2369 2360 2370 2371 2372 2373 2374 2375 2376 2377 2378 2379 2370 2380 2381 2382 2383 2384 2385 2386 2387 2388 2389 2380 2390 2391 2392 2393 2394 2

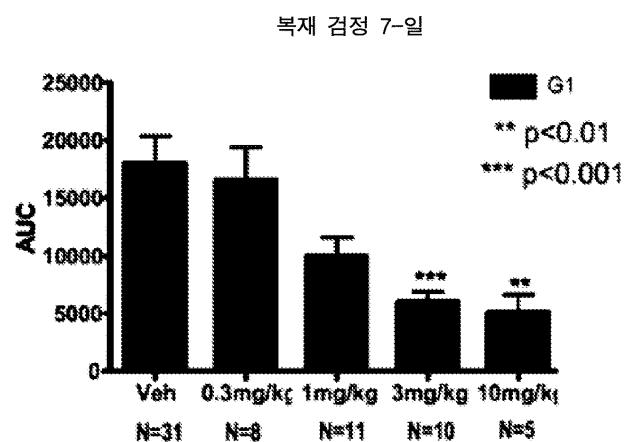
도면7



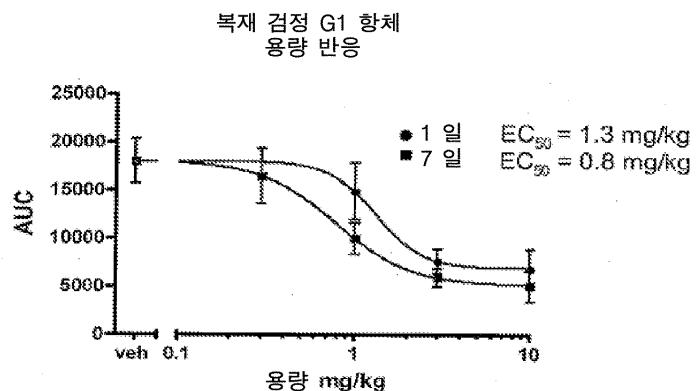
도면8a



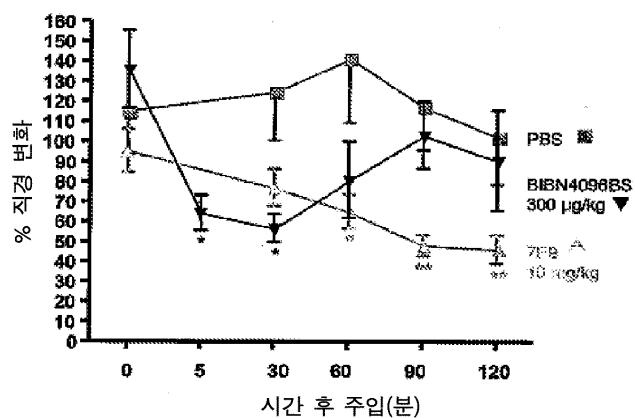
도면8b



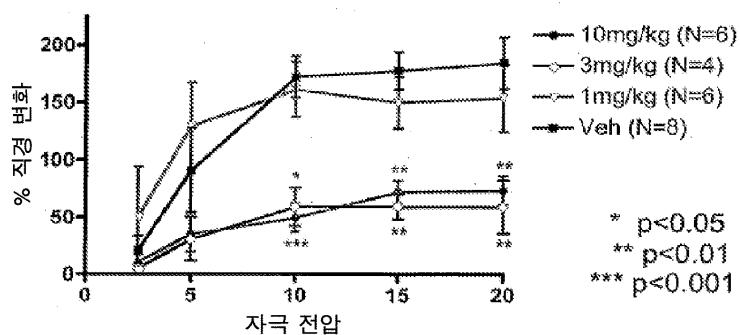
## 도면8c



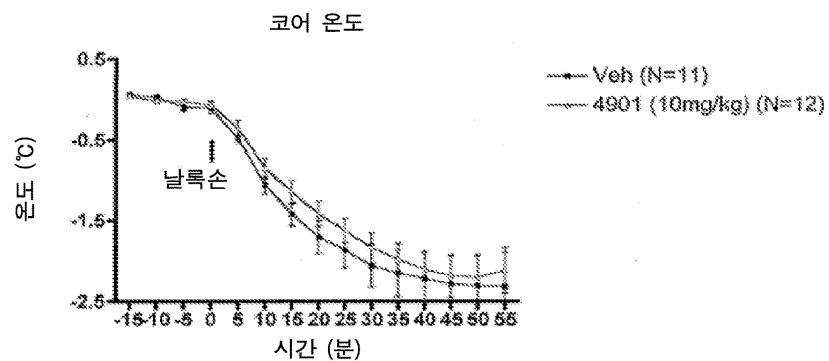
## 도면9



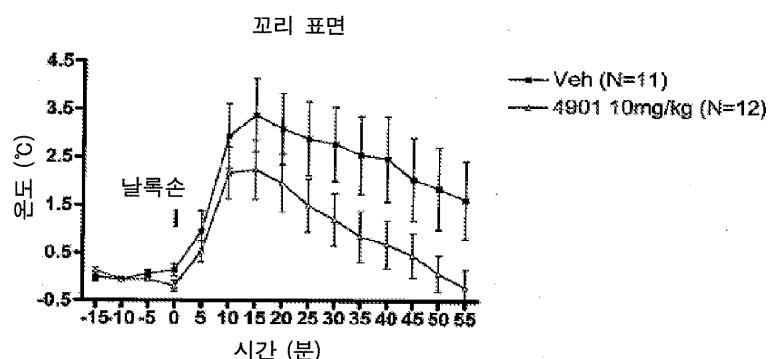
## 도면10



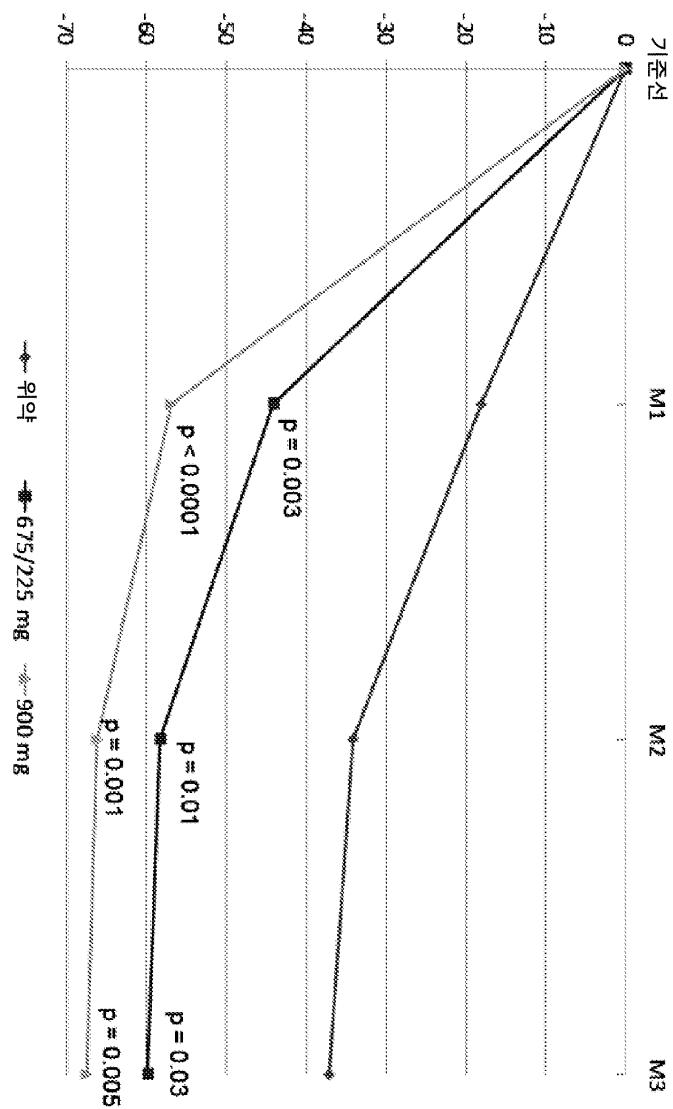
도면11a



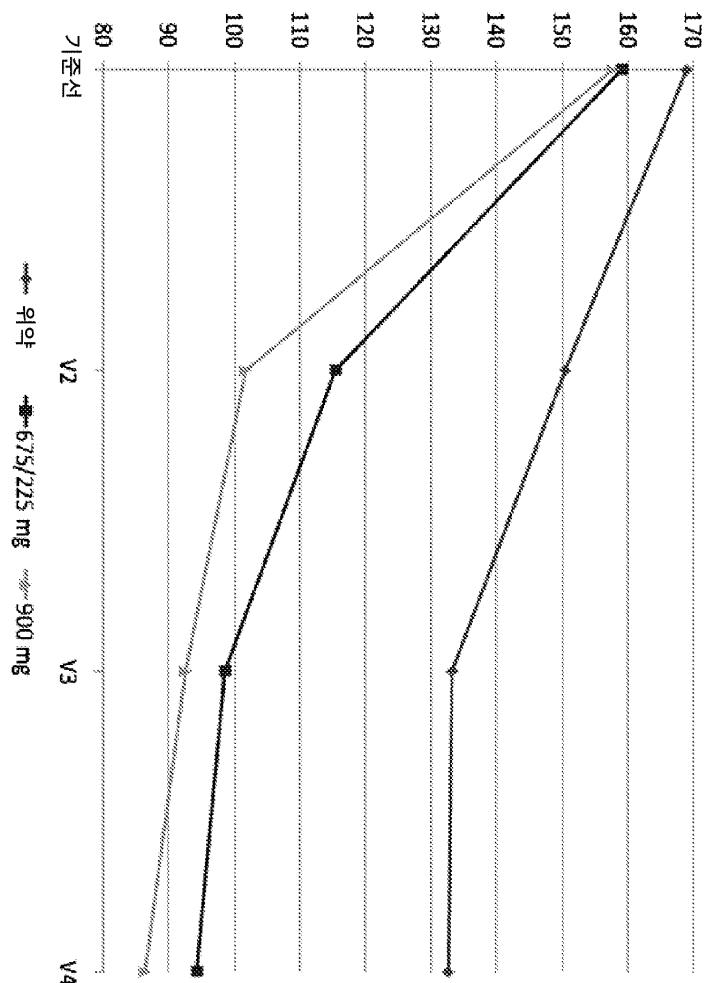
도면11b



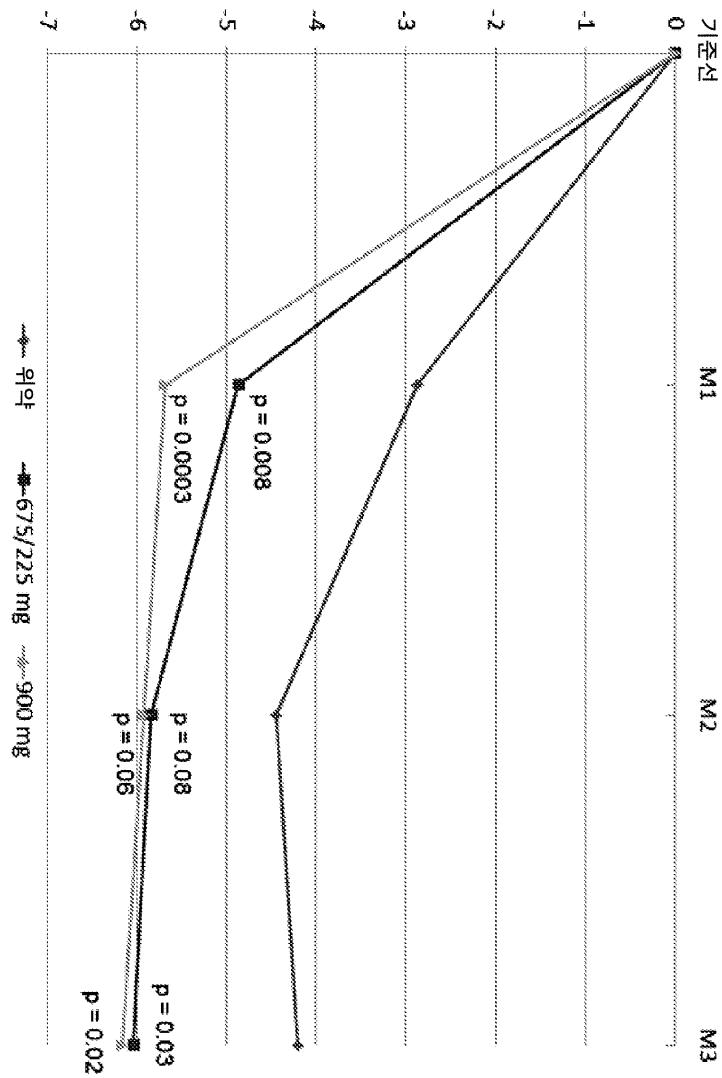
## 도면12



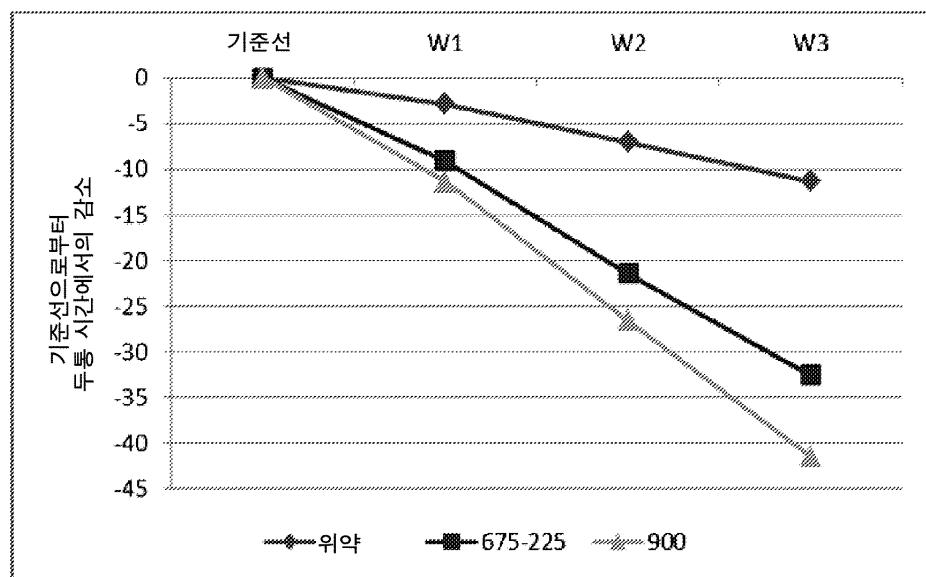
도면13



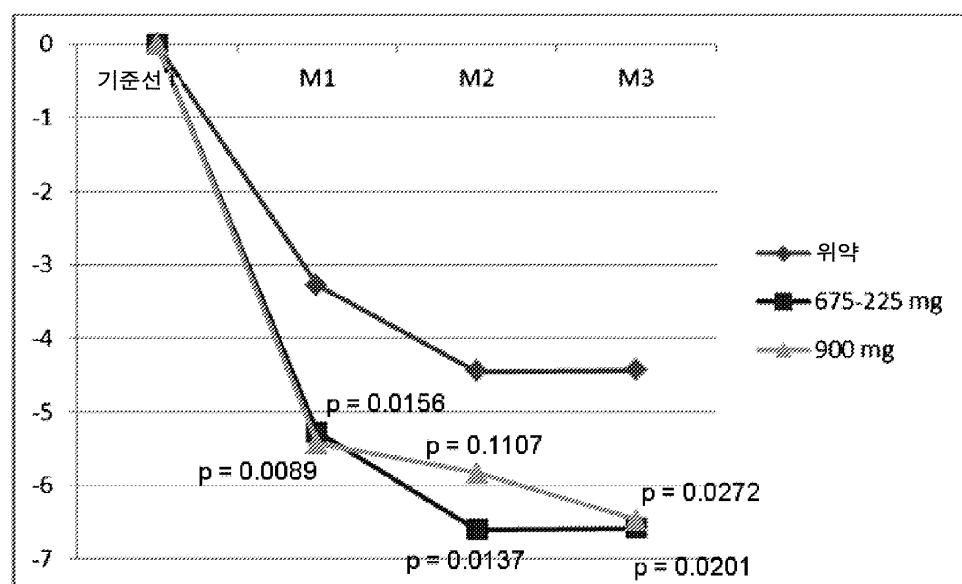
도면 14



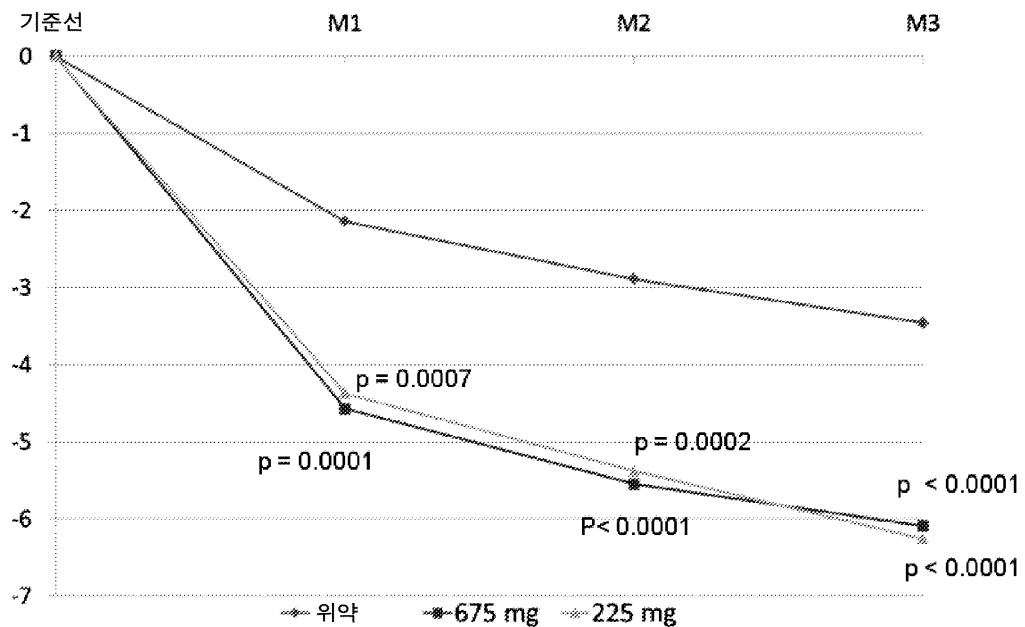
도면15



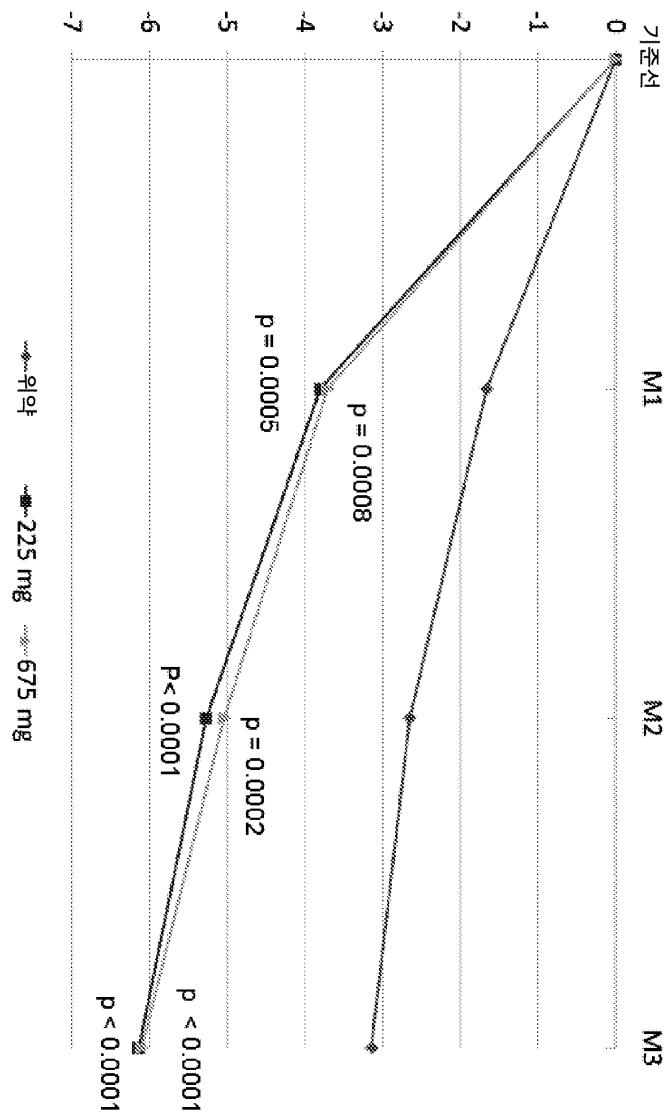
도면16



도면17



## 도면18



## 서열목록

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; LABRYS BIOLOGICS, INC.

&lt;120&gt; ANTAGONIST ANTIBODIES DIRECTED AGAINST CALCITONIN GENE-RELATED

PEPTIDE AND METHODS USING SAME

&lt;130&gt; 43612-0006W01

&lt;140&gt; PCT/US2015/021887

&lt;141&gt; 2015-03-20

&lt;150&gt; 62/119,778

&lt;151&gt; 2015-02-23

&lt;150&gt; 62/083,809

&lt;151&gt; 2014-11-24

&lt;150&gt; 61/968,897

&lt;151&gt; 2014-03-21

&lt;160&gt; 79

&lt;170&gt; PatentIn version 3.5

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 122

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

&lt;400&gt; 1

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Glu Ile Arg Ser Glu Ser Asp Ala Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Leu Ala Tyr Phe Asp Tyr Gly Leu Ala Ile Gln Asn Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

<400> 2

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Lys Arg Val Thr Thr Tyr

20 25 30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Leu Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 3

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Ile Ser

1 5 10

<210> 4

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 4

Glu Ile Arg Ser Glu Ser Asp Ala Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu Ala  
 1 5 10 15  
 Val Lys Gly

<210> 5  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 peptide

<400> 5  
 Tyr Phe Asp Tyr Gly Leu Ala Ile Gln Asn Tyr  
 1 5 10  
 <210> 6  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 peptide

<400> 6  
 Lys Ala Ser Lys Arg Val Thr Thr Tyr Val Ser  
 1 5 10  
 <210> 7  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213>

> Artificial Sequence  
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 peptide

<400> 7  
 Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Leu  
 1 5  
 <210> 8  
 <211> 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

&lt;400&gt; 8

Ser Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr Thr

1 5

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 366

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

&lt;400&gt; 9

gaagttcagc tggttgaatc cgggggtggt ctggttcagc caggggtttc cctgcgtctg	60
tcctgcgtg ctccgggtt cacctctcc aactactgga tctcctgggt tcgtcaggct	120
cctggtaaag gtctggaaatg ggttgctgaa atccgttccg aatccgacgc gtccgctacc	180
cattacgctg aagctgttaa aggtcgttt accatctccc gtgacaacgc taagaactcc	240
ctgtacctgc agatgaactc cctgcgtgct gaagacaccc ctgttacta ctgcctggct	300
tacttigact acggtctggc tatccagaac tactgggtc agggtaccct gttaccgtt	360
tcctcc	366

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 321

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

&lt;400&gt; 10

gaaatcgttc tgaccaggc cccggctacc ctgtccctgt ccccagggtga acgtgctacc	60
ctgtcctgca aagttccaa acgggttacc acctacgtt cctggtagcca gcagaaaccc	120
ggtcaggctc ctctgtgatctacgtt gtttccaaacc gttacctcggtatccagct	180
cgtttctccg gtccgggttc cggtagccac ttccacctga ccatctccctc cctggaaaccc	240

gaagacttcg ctgttacta ctgcagtcag tcctacaact acccctacac cttcggtcag 300

ggtaccaaac tgaaaaatcaa a 321

<210> 11

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 11

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Glu Ile Arg Ser Glu Ser Asp Ala Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Leu Ala Tyr Phe Asp Tyr Gly Leu Ala Ile Gln Asn Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

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

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
 180 185 190  
 Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp  
 195 200 205  
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys  
 210 215 220  
 Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser  
 225 230 235 240  
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
 245 250 255  
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
 275 280 285  
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val  
 290 295 300  
 Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Glu Tyr  
 305 310 315 320  
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr  
 325 330 335  
 Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
 340 345 350  
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
 355 360 365  
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
 370 375 380  
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp  
 385 390 395 400  
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
 405 410 415  
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420	425	430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
435	440	445
<210> 12		
<211> 214		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide		
<400> 12		
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
1	5	10
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Lys Arg Val Thr Thr Tyr		
20 25 30		
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile		
35	40	45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Leu Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro		
65	70	75
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro		
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr		
85 90 95		
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala		
100	105	110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly		
115	120	125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala		
130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
145 150 155 160		
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser		
165	170	175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 1347

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polynucleotide

&lt;400&gt; 13

gaagttcagc tggtaatc cgggtgggt ctggttcagc caggtggtt cctgcgtctg	60
tcctgcgcgtc ctccggttt caccttctcc aactactgga ttcctgggt tcgtcaggct	120
cctggtaaag gtctggaatg gttgctgaa atccgttccg aatccgacgc gtccgctacc	180
cattacgctg aagctgttaa aggtcgtttc accatctccc gtgacaacgc taagaactcc	240
ctgtacctgc agatgaactc cctgcgtgtc gaagacaccc ctgttacta ctgcctggct	300

tacttigact acggctctggc tatccagaac tactgggtc aggttaccct gttaccgtt	360
tcctccgcct ccaccaaggg cccatctgtc ttccactgg cccatgtctc ccgcagcacc	420
tccgagagca cagccgcctt gggctgcctg gtcaaggact acttcccaga acctgtgacc	480
gtgtcctgga actctggcgc tctgaccaggc ggcgtgcaca cttcccaagc tgtcctgcag	540
tcctcaggctc tctactccct cagcagcgtc gtgaccgtgc catccagcaa ctccggcacc	600
cagacctaca cctgcaacgt agatcacaag ccaagcaaca ccaaggtcga caagaccgtg	660
gagagaaaatgttgttggatgtccaccc tttccatggc cggaccatcc	720

gtgttcctgt tccctccaaa gccaaaggac accctgtatga tctccagaac cccagagggt	780
acctgtgtgg tgggtggacgt gtcccacgg gacccagagg tgcagttcaa ctggatgtg	840
gacggaggatgg aggtgcacaa cgccaaaggacc aagccaaaggaggaggcgtt caactccacc	900
ttcagagtgg ttagcgtgtc gaccgtggtg caccaggact ggctgaacgg aaaggatgt	960
aagtgttggatgtccaa gggactgcca tccagcatcg agaagaccat ctccaaaggacc	1020
aaggacacgc caagagagcc acagggtgtat accctgcctt catccagaga ggagatgacc	1080

aagaaccagg tgtccctgac ctgtctggtg aagggattct atccatccga catcgccgtg 1140

gagtgggagt ccaacggaca gccagagaac aactataaga ccacccctcc aatgctggac 1200

tccgacggat ccttcttctt gtattccaag ctgaccgtgg acaagttccag atggcagcag 1260

ggaaacgtgt tctttgttc cgtgatgcac gaggccctgc acaaccacta taccagaag 1320

agcctgtccc tgtctccagg aaagtaa 1347

<210> 14

<211> 645

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 14

gaaatcggttc tgaccaggc cccggctacc ctgtccctgt ccccagggtga acgtgctacc 60

ctgtccctgca aagttccaa acgggttacc acctacgtt cctggatcca gcagaaaccc 120

ggtcaggctc ctcgtctgt gatctacggt gtttccaacc gttacctcg tatcccagct 180

cgttctccg gttccgggttc cggtaccgac ttccaccctga ccattctcctc cctggaaaccc 240

gaagacttcg ctgtttacta ctgcagtcag tcctacaact acccctacac cttcggtcag 300

ggtagccaaac tggaaatcaa acgcactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttccctcca 360

tctgtatgagc agttgaaatc cgaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

ccgcgcgagg ccaaagtaca gtggaaagggtg gataacgccccc tccaatccgg taactcccg 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacc 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcaggc 600

ctgagttctc cagtacaaa gagttcaac cgccgtgagt gctaa 645

<210> 15

<211> 37

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> C-term amidated

<400> 15

Ala Cys Asp Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1

5

10

15

Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val

20 25 30

Gly Ser Lys Ala Phe

35

<210> 16

<211> 30

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> C-term amidated

<400> 16

Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu Ser Arg Ser Gly Gly Val Val

1 5 10 15

Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe

20 25 30

<210> 17

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<

<220><223> C-term amidated

<400> 17

Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ser

1 5 10 15

Lys Ala Phe

<210> 18

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> C-term amidated

<400> 18

Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Ala Thr Asn Val Gly Ser

1 5 10 15

Lys Ala Phe

<210> 19

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> C-term amidated

<400> 19

Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ser

1 5 10 15

Ala Ala Phe

<210> 20

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> C-term amidated

<400> 20

Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ser

1 5 10 15

Glu Ala Phe

<210> 21

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> C-term amidated

<400> 21

Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ser

1 5 10 15

Met Ala Phe

<210> 22

<211> 19

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;&lt;223&gt; C-term amidated

&lt;400&gt; 22

Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ser

1 5 10 15

Gln Ala Phe

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 19

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;&lt;223&gt; C-term amidated

&lt;400&gt; 23

Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ser

1 5 10 15

Lys Ala Ala

&lt;210&gt; 24

&lt;211&gt; 14

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;&lt;223&gt; C-term amidated

&lt;400&gt; 24

Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe Ala

1 5 10

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 13

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;&lt;223&gt; C-term amidated

&lt;400&gt; 25

Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe

1 5 10

<210> 26

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> C-term amidated

<400> 26

Asn Asn Ala Val Pro Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe

1 5 10

<210> 27

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> C-term amidated

<400> 27

Asn Asn Phe Ala Pro Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe

1 5 10

<210> 28

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> C-term amidated

<400> 28

Asn Asn Phe Val Ala Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe

1 5 10

<210> 29

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> C-term amidated

<400> 29

Asn Asn Phe Val Pro Ala Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe

1 5 10

<210> 30

&lt;211&gt; 13

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;&lt;223&gt; C-term amidated

&lt;400&gt; 30

Asn Asn Phe Val Pro Thr Ala Val Gly Ser Lys Ala Phe

1 5 10

&lt;210&gt; 31

&lt;211&gt; 13

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;&lt;223&gt; C-term amidated

&lt;400&gt; 31

Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Ala Gly Ser Lys Ala Phe

1 5 10

&lt;210&gt; 32

&lt;211&gt; 13

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;&lt;223&gt; C-term amidated

&lt;400&gt; 32

Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Ala Ser Lys Ala Phe

1 5 10

&lt;210&gt; 33

&lt;211&gt; 13

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;&lt;223&gt; C-term amidated

&lt;400&gt; 33

Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ala Lys Ala Phe

1 5 10

&lt;210&gt; 34

&lt;211&gt; 13

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;&lt;223&gt; C-term amidated

&lt;400&gt; 34

Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Ala

1 5 10

&lt;210&gt; 35

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;&lt;223&gt; C-term amidated

&lt;400&gt; 35

Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe

1 5 10

&lt;210&gt; 36

&lt;211&gt; 19

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400

&gt; 36

Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ser

1 5 10 15

Lys Ala Phe

&lt;210&gt; 37

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 37

Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ser

1 5 10 15

Lys Ala

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 36

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 38

Ala Cys Asp Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1 5 10 15

Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val

20 25 30

Gly Ser Lys Ala

35

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 19

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 39

Ala Cys Asp Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1 5 10 15

Ser Arg Ser

&lt;210&gt; 40

&lt;211&gt; 13

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 40

Ala Cys Asp Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala

1 5 10

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 37

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Rattus sp.

&lt;220&gt;&lt;223&gt; C-term amidated

&lt;400&gt; 41

Ser Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ser Glu Ala Phe

35

<210> 42

<211> 19

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<220><223> C-term amidated

<400> 42

Ser Gly Gly Val Val Lys Asp Asn Phe Val Pro Thr Asn Val Gly Ser

1 5 10 15

Glu Ala Phe

<210> 43

<211> 37

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> C-term amidated

<400> 43

Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1 5 10 15

Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val

20 25 30

Gly Ser Lys Ala Phe

35

<210> 44

<211> 37

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<220><223> C-term amidated

<400> 44

Ser Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1	5	10	15
Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asp Asn Phe Val Pro Thr Asn Val			
20	25	30	
Gly Ser Lys Ala Phe			
35			

&lt;210&gt; 45

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;&lt;223&gt; C-term amidated

&lt;400&gt; 45

Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Gly Thr Tyr Thr Gln Asp Phe

1	5	10	15
Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly Val Gly Ala Pro			
20	25	30	

&lt;210&gt; 46

&lt;211&gt; 37

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;&lt;223&gt; C-term amidated

&lt;400&gt; 46

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu

1	5	10	15
Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val			
20	25	30	
Gly Ser Asn Thr Tyr			
35			

&lt;210&gt; 47

&lt;211&gt; 52

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;&lt;223&gt; C-term amidated

&lt;400&gt; 47

Tyr Arg Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys

1 5 10 15

Arg Phe Gly Thr Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln

20 25 30

Phe Thr Asp Lys Asp Lys Asp Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser

35 40 45

Pro Gln Gly Tyr

50

<210> 48

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 48

Glu Leu Leu Gly

1

<210> 49

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 49

Glu Leu Leu Gly

1

<210> 50

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 50

Pro Val Ala

1

<210> 51

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 51

Glu Leu Leu

1

<210> 52

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 52

Glu Phe Leu Gly

1

<210> 53

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<220><221> MOD\_RES

<222> (5)..(5)

<223> Arg, Trp, Gly, Leu or Asn

<220><221> MOD\_RES

<222> (7)..(7)

<223> Thr, Ala, Asp, Gly, Arg, Ser, Trp or Val

<400> 53

Lys Ala Ser Lys Xaa Val Xaa Thr Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 54

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<220><221> MOD\_RES

<222> (1)..(1)

<223> Gly or Ala

<220><221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Ala or His

<220><221> MOD\_RES

<222> (7)..(7)

<223> Leu, Thr, Ile or Ser

<400> 54

Xaa Xaa Ser Asn Arg Tyr Xaa

1 5

<210> 55

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<220><221> MOD\_RES

<222> (5)..(5)

<223> Glu, Arg, Lys, Gln or Asn

<220><221> MOD\_RES

<222> (8)..(8)

<223> Ala, Gly, Asn, Glu, His, Ser, Leu, Arg, Cys, Phe, Tyr, Val, Asp or Pro

<220><221> MOD\_RES

<222> (9)..(9)

<223> Ser, Gly, Thr, Tyr, Cys, Glu, Leu, Ala, Pro, Ile, Asn, Arg,  
Val, Asp or Met

<220><221> MOD\_RES

<222> (12)..(12)

<223> His or Phe

<220><221> MOD\_RES

<222> (15)..(15)

<223> Glu or Asp

<400> 55

Glu Ile Arg Ser Xaa Ser Asp Xaa Xaa Ala Thr Xaa Tyr Ala Xaa Ala

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 56

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

6xHis tag

<400> 56

His His His His His

1 5

<210> 57

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 57

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 58

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

&lt;400&gt; 58

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asn Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Glu Tyr His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ala Leu Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

&lt;210&gt; 59

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

&lt;400&gt; 59

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Gly Asn Tyr

20 25 30

Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Glu Gly Thr Gly Asp Thr Arg Tyr Ile Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Ala Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Leu Ser Asp Tyr Val Ser Gly Phe Ser Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 60

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 polypeptide

<400> 60

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asn Tyr  
 20 25 30  
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Glu Tyr His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ala Leu Pro Pro  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

&lt;210&gt; 61

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

&lt;400&gt; 61

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Gly Asn Tyr

20 25 30

Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Glu Gly Thr Gly Lys Thr Val Tyr Ile Gln Lys Phe

50 55 60

Ala Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Leu Ser Asp Tyr Val Ser Gly Phe Ser Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

&lt;210&gt; 62

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

&lt;400&gt; 62

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

1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Asp Ile Ser Lys Tyr			
20	25	30	
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
35	40	45	
Tyr Tyr Thr Ser Gly Tyr His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ala Leu Pro Pro			
85	90	95	
Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
100	105		

&lt;210&gt; 63

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

&lt;400&gt; 63

1	5	10	15
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser			
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Gly Asn Tyr			
20	25	30	
Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
35	40	45	

50	55	60	
Gly Ala Ile Tyr Glu Gly Thr Gly Lys Thr Val Tyr Ile Gln Lys Phe			
Ala Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	

Ala Arg Leu Ser Asp Tyr Val Ser Gly Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 64

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 64

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Pro Ile Asp Lys Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Glu Tyr His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ala Leu Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 65

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 65

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Gly Asn Tyr  
 20 25 30  
 Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Glu Gly Thr Gly Lys Thr Val Tyr Ile Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Ala Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Leu Ser Asp Tyr Val Ser Gly Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 66

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 66

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asp Lys Tyr  
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Gly Tyr His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ala Leu Pro Pro			
85	90	95	
Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
100	105		

&lt;210&gt; 67

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

&lt;400&gt; 67

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Gly Asn Tyr			
20	25	30	
Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
35	40	45	

Gly Ala Ile Tyr Glu Gly Thr Gly Lys Thr Val Tyr Ile Gln Lys Phe			
50	55	60	
Ala Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Leu Ser Asp Tyr Val Ser Gly Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly			
100	105	110	

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser			
115			

&lt;210&gt; 68

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 68

Gln Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Gln Ser Val Tyr His Asn Thr

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Gln Leu

35 40 45

Ile Tyr Asp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln

65 70 75 80

Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Ser Tyr Asp Cys Thr

85 90 95

Asn Gly Asp Cys Phe Val Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg

<210> 69

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 69

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Gly Ile Asn Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys  
 50 55 60  
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Thr Thr Val Tyr Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala  
 85 90 95  
 Arg Gly Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

100 105 110

<210> 70

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 70

Gln Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp  
 1 5 10 15  
 Arg Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn Asn  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Gln Leu

35 40 45

Ile Tyr Ser Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Ser Tyr Asp Cys Ser  
 85 90 95  
 Ser Gly Asp Cys Phe Val Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg

<210> 71

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

&lt;400&gt; 71

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Leu Asp Leu Ser Ser Tyr

20 25 30

Tyr Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Gly Ile Asn Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gly Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

100 105 110

&lt;210&gt; 72

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

&lt;400&gt; 72

Gln Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn Asn

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Gln Leu

35 40 45

Ile Tyr Ser Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln

65 70 75 80

Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Ser Tyr Asp Cys Ser

85 90 95

Ser Gly Asp Cys Phe Val Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg

<210> 73

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 73

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Leu Asp Leu Ser Ser Tyr

20 25 30

Tyr Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Gly Ile Asn Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gly Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

100 105 110

&lt;210&gt; 74

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

&lt;400&gt; 74

Gln Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly Ser

1 5 10 15

Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Gln Ser Val Tyr His Asn Thr  
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Gln Leu

35 40 45

Ile Tyr Asp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser  
50 55 60Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln  
65 70 75 80Cys Asn Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys Leu Gly Ser Tyr Asp Cys Thr  
85 90 95

Asn Gly Asp Cys Phe Val Phe Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

Arg

&lt;210&gt; 75

&lt;211&gt; 109

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

&lt;400&gt; 75

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

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Gly Tyr Tyr

20 25 30  
 Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Leu Glu Trp Ile Gly  
 35 40 45  
 Val Ile Gly Ile Asn Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly  
 50 55 60  
 Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Met  
 65 70 75 80  
 Thr Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly  
 85 90 95  
 Asp Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

100 105  
 <210> 76  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 polypeptide

<400> 76  
 Gln Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp  
 1 5 10 15  
 Arg Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Gln Ser Val Tyr His Asn Thr  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Gln Leu

35 40 45  
 Ile Tyr Asp Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Ser Tyr Asp Cys Thr  
 85 90 95  
 Asn Gly Asp Cys Phe Val Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100                    105                    110

Arg

<210> 77

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 77

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1                    5                            10                    15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Gly Tyr  
 20                    25                            30

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

35                    40                            45

Gly Val Ile Gly Ile Asn Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys  
 50                    55                            60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Thr Thr Val Tyr Leu  
 65                    70                            75                    80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala  
 85                    90                            95

Arg Gly Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

100                    105                    110

<210> 78

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 78

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln  
 1                    5                            10                    15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
 20 25 30  
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Arg Leu  
 85 90 95  
 Ser Ala Val Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110  
 <210> 79  
 <211> 130  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 polypeptide

<400> 79  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45  
 Ala Val Ile Ser Phe Asp Gly Ser Ile Lys Tyr Ser Val Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Asp Arg Leu Asn Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr His Tyr

100

105

110

Lys Tyr Tyr Gly Met Ala Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val

115

120

125

Ser Ser

130