

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6282584号
(P6282584)

(45) 発行日 平成30年2月21日(2018.2.21)

(24) 登録日 平成30年2月2日(2018.2.2)

(51) Int.Cl.	F I
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A
C O 7 K 16/18 (2006.01)	C O 7 K 16/18 Z N A
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21

請求項の数 31 (全 151 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2014-512923 (P2014-512923)	(73) 特許権者	511305553
(86) (22) 出願日	平成24年5月21日(2012.5.21)		アルダーバイオ・ホールディングズ・エル
(65) 公表番号	特表2014-517699 (P2014-517699A)		エルシー
(43) 公表日	平成26年7月24日(2014.7.24)		アメリカ合衆国ネバダ州89109, ラス
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/038844		ベガス, コンベンション・センター・ドラ
(87) 国際公開番号	W02012/162243		イブ 101, スイート 850
(87) 国際公開日	平成24年11月29日(2012.11.29)	(74) 代理人	100140109
審査請求日	平成27年5月21日(2015.5.21)		弁理士 小野 新次郎
(31) 優先権主張番号	61/488,660	(74) 代理人	100075270
(32) 優先日	平成23年5月20日(2011.5.20)		弁理士 小林 泰
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100101373
			弁理士 竹内 茂雄
		(74) 代理人	100118902
			弁理士 山本 修

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗CGRP組成物およびその使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

配列番号55の相補性決定領域(CDR)1配列、配列番号56のCDR2配列および配列番号57のCDR3配列を含む可変軽(V_L)鎖、ならびに、配列番号58のCDR1配列、配列番号59のCDR2配列および配列番号60のCDR3配列を含む可変重(V_H)鎖を含む、単離された抗ヒトCGRP抗体または抗体断片。

【請求項2】

抗ヒトCGRP抗体または抗体断片が、

(i) 配列番号53において表されるアミノ酸配列を有するV_H鎖、またはそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を示すその変異体；および/または

(ii) 配列番号51において表されるアミノ酸配列を有するV_L鎖、またはそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を示すその変異体；

を含む、請求項1に記載の単離された抗ヒトCGRP抗体または抗体断片。

【請求項3】

抗ヒトCGRP抗体または抗体断片が、

配列番号51において表されるアミノ酸配列を有する可変軽(V_L)鎖、またはそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を示すその変異体；および、配列番号53において表されるアミノ酸配列を有

10

20

する可変重 (V_H) 鎖、またはそれと少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、もしくは少なくとも 99% の配列同一性を示すその変異体；
を含む、請求項 1 または 2 に記載の単離された抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片。

【請求項 4】

抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片が、I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 から選択されるヒト定常ドメインを含み、それは少なくとも 1 つの F c 媒介エフェクター機能を障害するまたは増加させるために場合により修飾されている、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の単離された抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片。

【請求項 5】

抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片が、ヒト I g G 1 定常ドメインを含み、それは少なくとも 1 つの F c 媒介エフェクター機能を障害するまたは増加させるために場合により修飾されている、請求項 4 に記載の単離された抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片。

【請求項 6】

ヒト I g G 1 が、障害されたエフェクター機能を有する、請求項 5 に記載の単離された抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片。

【請求項 7】

抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片が、配列番号 54 のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号 52 のアミノ酸配列を含む軽鎖をさらに含む、請求項 3 に記載の単離された抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片。

【請求項 8】

前記抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片が、配列番号 51 において表されるアミノ酸配列を有する可変軽 (V_L) 鎖を含む可変軽鎖および配列番号 53 において表されるアミノ酸配列を有する可変重 (V_H) 鎖を含む、請求項 1 に記載の単離された抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片。

【請求項 9】

配列番号 54 のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号 52 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項 8 に記載の単離された抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片。

【請求項 10】

- (i) アグリコシル化されている；
 - (ii) グリコシル化されているが、マンノース残基のみを含むのみである；
 - (iii) N - グリコシル化されていない；
 - (iv) エフェクター機能、半減期、タンパク質分解、および / またはグリコシル化を変更するために修飾された F c 領域を含む；
 - (v) ヒト化抗体、キメラ抗体、単鎖抗体、または一価抗体である；
 - (vi) F a b 断片、F a b ' 断片、または F (a b ')₂ 断片から選択される抗体断片である；
 - (vii) 検出可能な標識または治療薬に直接的または間接的に結合されている；
 - (viii) C G R P と $10^{-4} S^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-5} S^{-1}$ 、 $10^{-5} S^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-6} S^{-1}$ 、 $10^{-6} S^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-7} S^{-1}$ 、または $10^{-7} S^{-1}$ 以下の解離速度 (K_{off}) で結合する；
 - (ix) C G R P と C G R P - R および / またはそのマルチマー、C G R P - C G R P - R 複合体中の 1 つ以上のさらなるタンパク質との会合を阻害する、および / またはその生物学的効果を拮抗する；
 - (x) 検出可能な部分または機能部分であるエフェクター部分をさらに含み、前記検出可能な部分が、場合により、蛍光色素、酵素、基質、生物発光物質、放射性物質、または化学発光物質であり、前記機能部分が、場合により、ストレプトアビジン、アビジン、ビオチン、細胞毒素、細胞毒性薬、または放射性物質である；及び / または
 - (xi) ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 から誘導されるヒト F c を含む、
- 請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の単離された抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片。

10

20

30

40

50

【請求項 1 1】

請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片をコードする核酸（複数可）であって、該核酸が場合により酵母またはヒトの好ましいコドンから構成される、前記核酸。

【請求項 1 2】

請求項 1 1 に記載の核酸を含むベクターであって、該ベクターが場合によりプラスミドまたは組み換えウイルスベクターである、前記ベクター。

【請求項 1 3】

請求項 1 1 に記載の核酸及び / 又は請求項 1 2 に記載のベクターによりコードされる抗体もしくは抗体断片を発現する培養または組み換え細胞。

10

【請求項 1 4】

酵母、哺乳動物、細菌、真菌、または昆虫細胞、場合により二倍体ピキア酵母または C H O 細胞から選択される、請求項 1 3 に記載の培養または組み換え細胞。

【請求項 1 5】

予防有効量または治療有効量の請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の少なくとも 1 つの抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片を含む、医薬組成物。

【請求項 1 6】

C G R P に関連する疾患又は状態を治療、改善、軽減又は予防するための医薬組成物であって、予防有効量または治療有効量の請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の少なくとも 1 つの抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片を含む、前記医薬組成物。

20

【請求項 1 7】

請求項 1 6 に記載の医薬組成物であって、

前兆を有する偏頭痛、前兆を有しない偏頭痛、体重減少、癌または腫瘍、癌または腫瘍成長に伴う血管形成、癌または腫瘍生存に伴う血管形成、慢性偏頭痛、反復発作性偏頭痛、月経性偏頭痛、片麻痺型偏頭痛、群発性頭痛、偏頭痛様神経痛、慢性頭痛、緊張性頭痛、一般的頭痛、のぼせ、慢性発作性片側頭痛、頭部に内在する構造的問題による二次性頭痛、頸部に内在する構造的問題による二次性頭痛、頭蓋神経痛、副鼻腔性頭痛、アレルギー誘発性の頭痛、アレルギー誘発性の偏頭痛、疼痛、炎症性痛覚、術後創疼痛、複合性局所疼痛症候群、癌性疼痛、原発性もしくは転移性骨癌性疼痛、骨折痛、骨粗鬆症性骨折痛、熱傷に起因する疼痛、骨粗鬆症、痛風性関節痛、鎌状赤血球発症に伴う疼痛、肝細胞癌、

30

ここで前記疾患は場合により過活動膀胱、尿失禁、疼痛、慢性痛、神経原性炎症、炎症性痛覚、神経因性疼痛、眼痛、歯痛、手術後の痛み、外傷関連疼痛、糖尿病、非インシュリン依存型糖尿病、および炎症性自己免疫障害、血管障害、炎症、関節炎、気管支過敏症、喘息、ショック、敗血症、アヘン製剤離脱症候群、モルヒネ耐性、男性および女性におけるのぼせ、アレルギー性皮膚炎、乾癬、脳炎、脳損傷、てんかん、神経変性疾患、皮膚病掻痒症、神経性皮膚発赤、酒さ、紅斑、炎症性腸疾患、過敏性腸症候群、膀胱炎、および月経困難から選択され、

40

ここで前記疾患は場合により疼痛、過活動膀胱、尿失禁、頭痛または偏頭痛から選択される、前記医薬組成物。

【請求項 1 8】

鎮痛剤、抗ヒスタミン剤、抗炎症薬、抗生物質、化学療法薬、免疫抑制剤、サイトカイン、抗増殖剤、制吐剤または細胞毒素から選択される別の治療薬とともに用いるための、請求項 1 6 または 1 7 に記載の医薬組成物。

50

【請求項 19】

鎮痛剤が場合により N S A I D、オピオイド鎮痛剤、抗体もしくは抗体断片、または非抗体生物製剤から選択され、

当該 N S A I D は、シクロオキシゲナーゼ 1 および / またはシクロオキシゲナーゼ 2 阻害剤；イブプロフェン、ナプロキセン、ナプロシン、ジクロフェナック、およびケトプロフェンを含むプロピオン酸誘導体；トルメチンおよびスリダックを含む酢酸誘導体；メフェナム酸およびメクロフェナム酸を含むフェナム酸誘導体；ジフルニサルおよびフルフェニサルを含むピフェニルカルボン酸誘導体；ならびにピロキシム、スドキシカム、およびイソキシカムを含むオキシカム；から選択され、

鎮痛剤がフェナントレン；フェニルヘプチルアミン；フェニルピペリジン；モルフィナン；およびベンゾモルファン化合物から選択され、

当該オピオイド鎮痛剤は、コデイン、ジヒドロコデイン、ジアセチルモルヒネ、ヒドロコドン、ヒドロモルホン、レボルファノール、オキシモルフォン、アルフェンタニル、ブプレノルフィン、ブトルファノール、フェンタニール、スフェンタニル、メペリジン、メタドン、ナルブフィン、プロボキシフェン、ペンタゾシンまたはそれらの薬剂的に許容される塩、およびモルヒネまたはモルヒネ誘導体またはその薬剂的に許容される塩から選択され、そして

当該抗体または抗体断片は、N G F 抗体または抗体断片である、
請求項 18 に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

組成物が、対象に投与された際に当該対象の体重 $k g$ あたり 0.1 から $100 m g / k g$ の間の濃度を提供する抗 C G R P 抗体または抗体断片を含む、請求項 15 ~ 19 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 21】

前記の濃度が、対象の体重 $k g$ あたり $0.4 m g / k g$ である、請求項 20 に記載の医薬組成物。

【請求項 22】

組成物が、26 週間に 1 回またはそれより低い頻度、16 週間に 1 回またはそれより低い頻度、8 週間に 1 回またはそれより低い頻度、4 週間に 1 回またはそれより低い頻度、2 週間に 1 回またはそれより低い頻度、1 週間に 1 回またはそれより低い頻度、または 1 日に 1 回またはそれより低い頻度で、対象に投与される、請求項 15 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 23】

抗 C G R P 抗体断片が、F a b 断片である、請求項 15 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 24】

組成物が、対象の体重 $k g$ あたり $0.1 m g / k g \sim 40 m g / k g$ の間の濃度で対象に投与される F a b 断片を含む、請求項 23 に記載の医薬組成物。

【請求項 25】

F a b 断片を含む前記組成物が、2 週間に 1 回またはそれより低い頻度、1 週間に 1 回またはそれより低い頻度、1 日に 1 回またはそれより低い頻度、1 日に複数回、または数時間ごとに、対象に投与するのに適している、請求項 23 または 24 に記載の医薬組成物。

【請求項 26】

前記組成物が、筋肉内、皮下、静脈内、直腸内、輸液、経口、経皮、腹腔内、または吸引投与に適している、請求項 15 ~ 25 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 27】

前記組成物が、筋肉内、皮下、または静脈内投与に適している、請求項 15 ~ 25 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 28】

前記組成物が、薬剂的に許容可能名賦形剤または担体をさらに含む、請求項 15 ~ 25

10

20

30

40

50

のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 29】

前記組成物が、さらにリン酸緩衝食塩水 (PBS) を含む、請求項 28 に記載の医薬組成物。

【請求項 30】

許容可能な担体または安定剤をさらに含む、請求項 15 ~ 29 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 31】

前記組成物が凍結乾燥されている、請求項 15 ~ 30 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2011年5月20日に出願された、米国特許仮出願番号第61/488,660号(代理人整理番号第67858,730300号)、標題「抗CGRP組成物およびその使用(ANTI-CGRP COMPOSITIONS AND USE THEREOF)」(その全体が参照により本明細書中に組み込まれる)の恩恵を請求する。

本出願は、EFS WebによってASCI形式で提出され、その全体が参照により本明細書中に組み込まれる配列表を含む。2012年5月18日に作製されたそのASCIコピーは678580730301.txtという名称であり、サイズは203,815バイトである。

【0002】

本発明は、ヒトカルシトニン遺伝子関連ペプチド(本明細書中で以下、「CGRP」)に対する結合特異性を有する抗体およびその断片(Fab断片を含む)に関する。本発明はさらに、CGRPに関連する疾患および障害についてスクリーニングする方法、ならびに前記抗体またはその断片を投与することによってCGRPに関連する疾患および障害を予防または治療する方法にも関する。

【背景技術】

【0003】

カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)は、37アミノ酸の長さの多機能神経ペプチドとして産生される。CGRPの2つの形態、すなわちCGRPアルファおよびCGRPベータ形態がヒトにおいて存在し、同様の活性を有する。CGRPアルファおよびCGRPベータは、ヒトでは3つのアミノ酸が異なり、そして異なる遺伝子由来である。ペプチドのCGRPファミリーは、アミリン、アドレノメデュリン、およびカルシトニンを含むが、それぞれは異なる受容体および生物学的活性を有する。Doods, H., Curr. Op. Invest. Drugs, 2(9):1261-68 (2001)。

【0004】

CGRPは、活性化されると髄膜内で神経ペプチドを放出する三叉神経などの多くの組織から放出され、血管拡張、血管漏出、および肥満細胞分解によって特徴付けられる神経原性炎症に介在する。Durham, P.L., New Eng. J. Med., 350 (11):1073-75 (2004)。CGRPの生物学的効果は、CGRP受容体(CGRP R)によって媒介され、これは受容体関連膜タンパク質(RAMP)とあわせて7の膜貫通成分から構成される。CGRP Rは、Gタンパク質によるアデニル酸シクラーゼに対する有効なカップリングおよびcAMPの産生に必須である、受容体成分タンパク質(RCP)の活性をさらに必要とする。Doods, H., Curr. Op. Invest. Drugs, 2(9):1261-68 (2001)。

【0005】

偏頭痛は、米国において成人集団の約10%が罹患している神経血管障害であり、典型的には激しい頭痛を伴う。偏頭痛患者の約20~30%は、事象に先行および/または付随する限局性神経学的現象を含む前兆を経験する。CGRPは、偏頭痛の進行において顕著な役割を果たすと考えられている。例えばCGRPの血漿濃度は、他の神経ペプチドを

10

20

30

40

50

除いて、偏頭痛の頭痛期の間に頸静脈血で上昇しているのが確認された。さらに、Arulmozhi et alによると、以下のものが偏頭痛患者で確認されている：（１）血漿CGRP濃度と偏頭痛との間の強力な相関関係、（２）CGRPの注入が引き起こす偏頭痛様頭痛、（３）ベースラインCGRPレベルの上昇、そして（４）頭痛強度と有意に相関する偏頭痛発作中の血漿CGRPレベルの変化。Arulmozhi, D.K., et al., Vas. Pharma., 43: 176-187 (2005)。

【０００６】

偏頭痛の１つの有効な治療法は、トリプタミン系薬物のファミリーである、スマトリプタンおよびリザトリプタンをはじめとするトリプタンの投与である。このファミリーのメンバーは、5-HT_{1B}、5-HT_{1D}、および5-HT_{1F}をはじめとする複数のセロトニン受容体に対して親和性を有する。この薬物ファミリーのメンバーは、脳血管を選択的に収縮させるが、さらに冠状血管に対して血管収縮作用を引き起こす。Durham, P.L., New Eng. J. Med., 350 (11):1073-75 (2004)。すでに心臓疾患に罹っている患者では投与後に冠動脈攣縮の理論上の危険性があり、トリプタン摂取後の心臓事象はめったに起こらない。冠血管疾患の患者について禁忌であることに注意。

【０００７】

同様に、疼痛は、多くの場合、ある種の麻薬または非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）の投与によって対処することができる。しかしながら、これらの治療薬の投与は、あるマイナスの結果を代償にして起こり得る。NSAIDは腎不全、腸内出血、および肝機能障害を引き起こす可能性がある。麻薬は、吐き気、嘔吐、精神機能の低下、および中毒を引き起こす可能性がある。したがって、ある種のこれらのマイナスの結果を回避するために疼痛の別の治療法を特定することが望ましい。

【０００８】

CGRPは、偏頭痛、頭痛、および疼痛を含むが、これらに限定されない多くの疾患および障害に関与すると考えられている。

【０００９】

例えば、CGRPは、報告によると、過活動膀胱と関連する可能性があるか、またはさらには因果的役割を果たす可能性がある。CGRPが過活動膀胱状態と関連する可能性があるという証拠は、CGRPが尿路、DRGおよび脊髄に存在するという事実（Wharton et al., 1986 Neurosci (3):727）と、C線維求心性神経が、尿意に関与するインパルスを脊髄へと運ぶために重要であるという事実（Yoshida et al., 2011 J Pharmacol Sci (112):128）も含む。さらに、ボトックスの膀胱内投与はCGRPを抑制し、酢酸で誘発される膀胱痛モデルにおいて収縮間隔を有意に減少させることが報告されている（Chuang et al., 2004 J Urol (172):1529; Chuang et al., 2009 J Urol (182):786）。

【００１０】

CGRPがこの状態で因果的役割を果たす可能性があるという証拠は、最近公開された特許出願であり、その出願で開示された抗CGRP-Abが、テレピン油で誘発された過活動膀胱モデルにおける膀胱収縮回数を減少させることを示唆するとされるデータを含む（Pfizer国際公開第2011/024113号）。

【００１１】

CGRPはこれらや他の障害に関与することがわかっているので、有害な副作用を回避しつつ、CGRPに関連する疾患および障害を予防または治療するために有用な組成物および方法が当該技術分野で依然として必要とされている。偏頭痛、頭痛、過活動膀胱、および疼痛などのCGRPに関連する疾患または障害を軽減または阻害する組成物または方法が当該技術分野で依然として必要とされている。

【発明の概要】

【００１２】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有する特異抗体およびその断片、特に、所望のエピトープ特異性、高親和性もしくは結合力および/または機能特性を有する抗体に関する。本発明の別の実施形態は、本明細書中で記載されるV_H、V_LおよびCDRポリペ

10

20

30

40

50

プチドの配列を含む本明細書中で記載される抗体、およびそれらをコード化するポリヌクレオチドに関する。本発明の好ましい実施形態は、CGRPと結合することができる、および/またはCGRPのCGRP受容体(「CGRP R」)に対する結合が介在する生物学的活性を阻害することができる、キメラまたはヒト化抗体およびそれらの断片(Fab断片を含む)に関する。

【0013】

本発明の別の好ましい実施形態では、cAMPのCGRP アルファ、CGRP ベータ、およびラットCGRPによって引き起こされる産生を阻害する全長型抗体およびそのFab断片が企図される。本発明のさらなる好ましい実施形態では、受容体で投与後に血管拡張を軽減する全長型抗体およびそのFab断片が企図される。

10

【0014】

本発明の別の実施形態では、CGRPと結合することができるキメラまたはヒト化抗体およびそれらの断片(Fab断片を含む)は、偏頭痛(前兆を有する、または有しない)、癌または腫瘍、癌または腫瘍の増殖に伴う血管形成、癌または腫瘍生存に伴う血管形成、体重減少、疼痛、片麻痺型偏頭痛、群発性頭痛、偏頭痛性神経痛、慢性頭痛、緊張性頭痛、一般的頭痛、のぼせ、慢性発作性片側頭痛、頭頸部にある根底的構造的問題による二次性頭痛、頭蓋神経痛、副鼻腔性頭痛(たとえば、副鼻腔炎に伴うものなど)、およびアレルギー誘発性の頭痛または偏頭痛を軽減、治療、または予防する方法で有用である。本発明の抗体および抗体断片は特に、次の状態または疾患の1つ以上のリスクを治療、予防、改善、制御または軽減するのに有用性がある: 過活動膀胱ならびに膀胱感染症を含む他の尿の状態、疼痛、慢性痛、神経原性炎症および炎症性痛覚、神経因性疼痛、眼痛、歯痛、手術後の痛み、外傷関連疼痛、熱傷関連疼痛、糖尿病、非インシュリン依存型糖尿病および他の炎症性自己免疫障害、血管障害、炎症、関節炎、気管支過敏症、喘息、ショック、敗血症、アヘン製剤離脱症候群、モルヒネ耐性、男性および女性におけるのぼせ、アレルギー性皮膚炎、乾癬、脳炎、脳損傷、てんかん、神経変性疾患、心因性掻痒症、神経性皮膚発赤、酒さおよび紅斑をはじめとする皮膚疾患、炎症性腸疾患、過敏性腸症候群、膀胱炎、月経困難、ならびにCGRP受容体の拮抗作用によって治療または予防または症状改善され得る可能性のある他の状態。特に重要なのは、偏頭痛および群発性頭痛をはじめとする頭痛、ならびに他の疼痛関連状態、ならびに過活動膀胱の急性または予防的治療である。

20

30

【0015】

本発明の別の実施形態では、CGRPと結合することができるキメラまたはヒト化抗体およびそれらの断片(Fab断片を含む)は、好ましくは、胃食道逆流、および胃食道逆流、消化不良、過敏性腸症候群、炎症性腸疾患、クローン病、回腸炎、潰瘍性大腸炎、腎臓痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、または膵炎に伴う内臓痛を軽減、治療、または予防する方法において有用である。

【0016】

本発明の別の実施形態では、これらの抗体およびヒト化抗体をウサギ免疫細胞(Bリンパ球)から誘導することができ、ヒト生殖系配列に対するそれらの相同性(配列同一性)に基づいて選択することができる。これらの抗体は、最少の配列修飾しか必要としないか、または配列修飾を必要としない可能性があり、それによって、ヒト化後の機能特性の保持を助長する。本発明のさらなる実施形態は、例えば、ウサギ免疫細胞由来のV_H、V_LおよびCDRポリペプチドを包含する抗CGRP抗体からの断片およびこれをコード化するポリヌクレオチド、ならびにこれらの抗体断片およびそれらをコード化するポリヌクレオチドの、CGRPおよび/またはCGRP/CGRP R複合体と結合することができる新規抗体およびポリペプチド組成物の作成における使用に関する。

40

【0017】

本発明は、1つ以上の機能性部分または検出可能部分と結合した抗CGRP抗体およびそれらの結合断片の複合体も企図する。本発明は更に、前記キメラまたはヒト化抗CGRPまたは抗CGRP/CGRP R複合抗体およびそれらの結合断片を作成する方法も企

50

図する。1つの実施形態では、結合断片には、これらに限定されるものではないが、F a b断片、F a b'断片、F (a b')₂断片、F v断片、s c F v断片、S M I P (小分子免疫薬)、キャメルボディ、ナノボディ、およびI g N A Rが含まれる。

【0018】

本発明の実施形態は、C G R Pまたはその異常な発現に関連する疾患および障害の診断、評価および治療のための抗C G R P抗体およびそれらの結合断片の使用に関する。本発明は更に、C G R Pまたはその異常な発現に関連する疾患および障害の診断、評価および治療のための抗C G R P抗体の断片の使用も企図する。本発明の他の実施形態は、組換え宿主細胞、例えばC H O、N S OもしくはH E K 2 9 3細胞などのほ乳動物細胞、または酵母細胞 (例えば二倍体ピキア属などの二倍体酵母) および他の酵母株における抗C G R P抗体またはそれらの断片の産生に関する。

10

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図1 - 1】全長型抗体A b 1に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図1 - 2】全長型抗体A b 1に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図1 - 3】全長型抗体A b 1に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図2 - 1】全長型抗体A b 2に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

20

【図2 - 2】全長型抗体A b 2に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図2 - 3】全長型抗体A b 2に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図3 - 1】全長型抗体A b 3に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図3 - 2】全長型抗体A b 3に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図3 - 3】全長型抗体A b 3に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

30

【図4 - 1】全長型抗体A b 4に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図4 - 2】全長型抗体A b 4に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図4 - 3】全長型抗体A b 4に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図5 - 1】全長型抗体A b 5に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図5 - 2】全長型抗体A b 5に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

40

【図5 - 3】全長型抗体A b 5に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図6 - 1】全長型抗体A b 6に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図6 - 2】全長型抗体A b 6に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図6 - 3】全長型抗体A b 6に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図7 - 1】全長型抗体A b 7に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提

50

供する。

【図 7 - 2】全長型抗体 A b 7 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 7 - 3】全長型抗体 A b 7 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 8 - 1】全長型抗体 A b 8 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 8 - 2】全長型抗体 A b 8 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 8 - 3】全長型抗体 A b 8 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

10

【図 9 - 1】全長型抗体 A b 9 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 9 - 2】全長型抗体 A b 9 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 9 - 3】全長型抗体 A b 9 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 10 - 1】全長型抗体 A b 10 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 10 - 2】全長型抗体 A b 10 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

20

【図 10 - 3】全長型抗体 A b 10 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 11 - 1】全長型抗体 A b 11 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 11 - 2】全長型抗体 A b 11 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 11 - 3】全長型抗体 A b 11 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 12 - 1】全長型抗体 A b 12 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

30

【図 12 - 2】全長型抗体 A b 12 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 12 - 3】全長型抗体 A b 12 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 13 - 1】全長型抗体 A b 13 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 13 - 2】全長型抗体 A b 13 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 13 - 3】全長型抗体 A b 13 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

40

【図 14 - 1】全長型抗体 A b 14 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 14 - 2】全長型抗体 A b 14 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 14 - 3】全長型抗体 A b 14 に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列を提供する。

【図 15】抗体 A b 1、A b 2、A b 3、および A b 4 に関する下記実施例 1 のプロトコルにしたがって得られた C G R P アルファ E L I S A 結合データを提供する。

【図 16】抗体 A b 5、A b 6、A b 7、および A b 8 に関する下記実施例 1 のプロトコ

50

ルにしたがって得られたCGRP アルファELISA結合データを提供する。

【図17】抗体Ab9、Ab10、およびAb14に関する下記実施例1のプロトコルにしたがって得られたCGRP アルファELISA結合データを提供する。

【図18】抗体Ab11、Ab12、およびAb13に関する下記実施例1のプロトコルにしたがって得られたCGRP アルファELISA結合データを提供する。

【図19】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab1、Ab2、およびAb4による、CGRP アルファによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図20】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab3による、CGRP アルファによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図21】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab5およびAb6による、CGRP アルファによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図22】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab7、Ab8、Ab9、およびAb10による、CGRP アルファによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図23】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab11、Ab12、およびAb13による、CGRP アルファによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図24】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab14による、CGRP アルファによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図25】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab1、Ab2、およびAb3による、CGRP ベータによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図26】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab4、Ab5、およびAb6による、CGRP ベータによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図27】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab7およびAb8による、CGRP ベータによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図28】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた、抗体Ab9、Ab10、およびAb14によるCGRP ベータによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図29】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab11、Ab12、およびAb13による、CGRP ベータによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図30】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab1、Ab2、Ab4、およびAb5による、ラットCGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図31】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab3およびAb6による、ラットCGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図32】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab7およびAb8による、ラットCGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図33】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab9による、ラットCGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図34】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab10による、ラットCGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図35】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab11およびAb12による、ラットCGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図36】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab13による、ラットCGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図37】下記実施例1のプロトコルにしたがって得られた抗体Ab14による、ラットCGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害を示す。

【図38】下記実施例6のプロトコルにしたがって得られた、抗体Ab1～Ab13による放射標識されたCGRPのCGRP Rに対する結合の阻害を示す。

10

20

30

40

50

【図 3 9】下記実施例 7 のプロトコルにしたがって得られた、ラットモデルにおけるカプサイシン投与後に抗体 A b 3 および A b 6 を投与することによって得られた血管拡張における対照抗体と比較しての減少を示す。

【図 4 0】下記実施例 7 のプロトコルにしたがって得られた、ラットモデルにおけるカプサイシン投与後にさまざまな濃度で抗体 A b 6 を投与することによって得られた血管拡張における対照抗体と比較しての減少を示す。

【図 4 1】図 4 1 A C は、生理食塩水注入中の膀胱容量に対する A b 3 の有益な効果を示す。動物に A b 3 または負の対照抗体を投与し、次いで生理食塩水を膀胱に注入する間、モニターした。I C I (パネル A) は増加し、M F (パネル B) は減少し、膀胱容量が増大したことを示す。A M の差 (パネル C) は標準偏差内であり、統計的に有意ではなかった。星印は統計的に有意な改善を示す ($p < 0.05$ 、独立スチューデント t 試験、負の対照 A b と比較)。凡例：黒い棒グラフ、A b 3 処置 (10 mg/kg)；白抜きの棒グラフ、負の対照抗体 (10 mg/kg)。エラーバーは標準偏差を示す。略語：I C I、収縮間隔；M F、尿意頻度；A M、尿意の大きさ。

10

【図 4 2】神経因性疼痛のモデルにおける A b 2 の効果を示す。機械的異痛を Chung 手術 (L5/L6 脊髄神経結紮) によって誘発し、感受性の程度を A b 2 処置動物 (斜線棒グラフ) と対照動物 (黒い棒グラフ) との間で比較した。値が高いほど感受性が低いことを示す。平均感受性は 13 日 (A b 2 投与前) では類似しているが、14 および 17 日で改善された。エラーバーは標準誤差を示す。

【図 4 3】A b 2 およびモルヒネの鎮痛効果を示す。疼痛感受性を、モルヒネ ()、A b 2 (10 mg/kg 、)、またはピヒクル (負の対照、) を投与した動物について尻尾引っ込み時間 (y 軸、秒) によって評価した。動物はモルヒネ耐性を発現し、第 4 日までは対照動物と類似した尻尾引っ込み時間を示した。対照的に、A b 2 で処置された動物は実験期間にわたって (7 日まで) 尻尾引っ込み時間の持続的な改善を示した。A b 2 で処置された動物における改善は統計的に有意であった ($p < 0.05$ 、一元配置 A N O V A とそれに続くダネット試験、ピヒクルと比較、星印によって示す)。エラーバーは標準誤差を示す。

20

【図 4 4】A b 2 の用量依存性鎮痛効果を示す。0 日 (最初の尻尾引っ込み時間試験後) に、ラットに、 1 mg/kg ()、 3 mg/kg ()、もしくは 10 mg/kg () の用量の抗体 A b 2、またはピヒクル () もしくは負の対照抗体 () を投与した。痛みを伴う熱刺激に反応したラットの尻尾引っ込み時間を毎日評価した (時間が大きいことは、疼痛に対して比較的非感受性であることを示す)。尻尾引っ込み時間は、A b 2 の投与によって用量に依存した様態で増加した。星印は尻尾引っ込み時間において統計的に有意な増加を示す ($p < 0.05$ 、一元配置 A N O V A とそれに続くダネット試験、ピヒクルと比較)。エラーバーは標準誤差を示す。

30

【図 4 5】モルヒネ耐性の発現後にモルヒネを断った場合の、モルヒネと組み合わせた A b 2 の鎮痛効果を示す。0 日 (第 1 尻尾引っ込み時間試験後) に、ラットに 10 mg/kg の用量の抗体 A b 2 () および () またはピヒクル () を投与した。ラットに次いで 1 ~ 10 日 () または 1 ~ 4 日のみ () 毎日投与した。尻尾引っ込み時間はまずモルヒネで処置したマウスにおいて大幅に増加したが、後日減少し、モルヒネ耐性を示した。しかしながら、4 日後にモルヒネを断ったマウスでは、尻尾引っ込み時間は増加し、5 ~ 8 日で高いままであった。エラーバーは標準誤差を示す。

40

【図 4 6】内臓痛のラットモデルにおける A b 2 の効果を示す。内臓痛は、ナীব動物 (白い棒グラフ) または負の対照抗体 (黒い棒グラフ) もしくは A b 2 (斜線の棒グラフ) のいずれかを受けた T N B S で処置した動物が慢性結腸過敏症を起こす結腸拡張閾値 (値が高いほど感受性が低いことを示す) を測定することによって定量化した。過敏症は、A b 2 で処置された動物によって 27% 軽減され、拡張閾値は A b 2 の投与によって有意に改善された ($p < 0.05$ 、スチューデント t 試験、T N B S + 負の対照群と比較)。エラーバーは標準誤差を示す。

【発明を実施するための形態】

50

【 0 0 2 0 】

定義

記載されている特定の方法、プロトコル、細胞系、動物種または属、および試薬は異なっているとしてもよいので、本発明はそれらに限定されないと理解されるべきである。本明細書中で用いられる専門用語は、特定の実施形態を記載するためだけであり、本発明の範囲を限定することを意図せず、本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定されることも理解されるべきである。本明細書中で用いられる場合、単数形「a」、「and」、および「the」は、文脈上明確に別段の記載がない限り、複数の指示対象を含む。したがって、例えば、「細胞 (a cell)」への言及は複数のそのような細胞を含み、「タンパク質 (the protein)」への言及は、1つ以上のタンパク質および当業者に公知のその等価物などの言及を含む。本明細書中で用いられる全ての技術用語および科学用語は、明確に別段の指示がない限り、本発明が属する分野の通常の知識を有する者に通常理解されるのと同じ意味を有する。

10

【 0 0 2 1 】

カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) : 本明細書中で用いられる場合、CGRPは、American Peptides(Sunnyvale カリフォルニア州)およびBachem(Torrance, カリフォルニア州)から入手可能な以下のヒトCGRP アルファアミノ酸配列およびヒトCGRP ベータアミノ酸配列 :

CGRP アルファ : ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNFVPTNVGSKAF-NH₂ (配列番号 281) (N末端フェニルアラニンがアミド化されている) ;

20

CGRP ベータ : ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKSFVPTNVGSKAF-NH₂ (配列番号 282) (N末端フェニルアラニンがアミド化されている) ;

だけではなく、これらのCGRPアミノ酸配列の任意の膜結合形態、ならびにこの配列の突然変異体 (ムチエン (mutien))、スプライス変異、イソ型、オルトログ、ホモログおよび変異体も含む。

【 0 0 2 2 】

接合可能 (mating competent) な酵母種 : 本発明では、これは培養物で増殖させることができる任意の二倍体または四倍体酵母を広く含むことが意図される。そのような酵母種は、一倍体、二倍体、または他の倍数体形態で存在し得る。所定の倍数性の細胞は、適切な条件下で、その形態で無限の世代数増殖することができる。二倍体細胞はさらに孢子を形成して一倍体細胞を形成することもできる。連続接合の結果、二倍体株のさらなる接合または融合によって四倍体株を得ることができる。本発明は、一倍体酵母、ならびに例えば接合もしくはスフェロプラスト融合によって産生される二倍体または他の倍数体酵母細胞を企図する。

30

【 0 0 2 3 】

本発明の1つの実施形態では、接合可能酵母は、アルキシオジマ属 (Arxiozyma)、アスコボトリオジマ属 (Ascobotryozyma)、シテロミセス属 (Citeromyces)、デバリオミセス属 (Debaryomyces)、デッケラ属 (Dekkera)、エレモテシウム属 (Eremothecium)、イサトチェンキア属 (Issatchenkia)、カザクスタニア属 (Kazachstania)、クロイベロミセス属 (Kluyveromyces)、コダマエ属 (Kodamaea)、ロデロミセス属 (Lodderomyces)、パキソレン属 (Pachysolen)、ピキア属、サッカロミセス属 (Saccharomyces)、サツルニスボラ属 (Saturnispora)、テトラピシスボラ属 (Tetrapisispora)、トルラスボラ属 (Torulaspora)、ウィリオプシス属 (Williopsis)、およびジゴサッカロミセス属 (Zygosaccharomyces) を含む、サッカロミセス (Saccharomycetaceae) 科のメンバーである。本発明において有用である可能性のある他の種類の酵母としては、ヤロウィア属 (Yarrowia)、ロドスポリジウム属 (Rhodospiridium)、カンジダ属 (Candida)、ハンセヌラ属 (Hansenula)、フィロバシウム属 (Filobasium)、スポリジオボルス属 (Sporidiobolus)、ブレラ属 (Bullera)、ロイコスボリジウム属 (Leucosporidium) およびフィロバシデラ属 (Filobasidella) が挙げられる。

40

【 0 0 2 4 】

50

本発明の好ましい実施形態では、接合可能酵母はピキア属のメンバーである。本発明のさらなる好ましい実施形態では、ピキア属の接合可能酵母は、次の種のうちの1つである：ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*)、ピキア・メタノリカ (*Pichia methanolica*)、およびハンセンラ・ポリモルファ (*Hansenula polymorpha*) (ピキア・アングスタ (*Pichia angusta*))。本発明の特に好ましい実施形態では、ピキア属の接合可能酵母はピキア・パストリス種である。

【0025】

一倍体酵母細胞：正常なゲノム（染色体）補体の各遺伝子を1コピー有する細胞。

【0026】

倍数体酵母細胞：正常なゲノム（染色体）補体を1コピーより多く有する細胞。

10

【0027】

二倍体酵母細胞：細胞の通常のゲノムの定量を構成する基本的に全遺伝子を2コピー（アリル）有する細胞であって、2つの一倍体細胞の融合（接合）過程により通常形成される細胞。

【0028】

四倍体酵母細胞：細胞の通常のゲノムの定量を構成する基本的に全遺伝子を4コピー（アリル）有する細胞であって、2つの二倍体細胞の融合（接合）過程により通常形成される細胞。4倍体は、2、3、4またはそれ以上の異なる発現力セットを有し得る。出芽酵母 (*S. cerevisiae*) では選択接合によってホモ接合体雌雄異型 a/a および α/α 二倍体を得ることにより、そしてピキアでは一倍体の連続接合によって、栄養要求性二倍体を得ることによって、そのような4倍体を得ることができる。例えば、[*met his*] 一倍体を [*ade his*] 一倍体と接合して、二倍体 [*his*] を得ることができる。そして [*met arg*] 一倍体を [*ade arg*] 一倍体と接合して、二倍体 [*arg*] を得ることができる。次いで、二倍体 [*his*] × 二倍体 [*arg*] で四倍体原栄養体を得る。二倍体細胞の利点および使用への言及は、四倍体細胞にも適用できることは当業者には理解されるであろう。

20

【0029】

酵母接合：2つの一倍体酵母細胞が自然に融合して、1つの二倍体酵母細胞を形成するプロセス。

【0030】

減数分裂：二倍体酵母細胞が減少的な分裂を受けて4つの一倍体孢子産物を形成するプロセス。各孢子は次いで発芽し、一倍体栄養生長細胞系を形成し得る。

30

【0031】

選択可能なマーカー：選択可能なマーカーは、たとえば形質転換事象によって、その遺伝子を受容する細胞に対して成長表現型（物理的な成長特性）を付与する遺伝子または遺伝子断片である。選択可能なマーカーは、その選択可能なマーカー遺伝子を受容しない細胞が増殖できない条件下で、選択的増殖培地中でその細胞が生存および増殖することを可能にする。選択マーカー遺伝子は一般にいくつかの種類に分類され、細胞に抗生物質または他の薬品への耐性、2つの温度感受性（「*ts*」）変異体が交雑されるとき、または *ts* 変異体が形質転換されるときに温度への耐性を付与する遺伝子のようなポジティブ選択マーカー遺伝子、生合成遺伝子であって、その遺伝子を持たない全ての細胞に必要とされる特定の栄養素を欠く培地で増殖する能力を細胞に付与する生合成遺伝子、または変異型生合成遺伝子であって、野生型遺伝子を持たない細胞に増殖不能性を付与する変異型生合成遺伝子のようなネガティブ選択マーカー遺伝子、などを包含する。好適なマーカーとしては *ZE O*、*G418*、*LYS3*、*MET1*、*MET3a*、*ADE1*、*ADE3*、*URA3* などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

40

【0032】

発現ベクター：これらのDNAベクターは、標的宿主細胞内での外来タンパク質の発現のための操作を促進するエレメントを含む。好都合には、形質転換のためのDNAの配列の操作および産生は、まず、細菌宿主、例えば大腸菌 (*E. coli*) で実施され、通常、ベ

50

クターは細菌複製起源および適切な細菌選択マーカーを含む、そのような操作を促進する配列を含む。選択マーカーは、選択培養培地中で増殖させた、形質転換された宿主細胞の生存または増殖に必要なタンパク質をコード化する。選択遺伝子を含むベクターで形質転換されていない宿主細胞は、培養培地で生存しないであろう。典型的な選択遺伝子は、(a) 抗生物質もしくは他の毒素に対する耐性を付与するタンパク質、(b) 栄養要求不全を補完するタンパク質、または(c) 複合培地から入手可能でない重要な栄養素を供給するタンパク質をコード化する。酵母の形質転換のための例示的ベクターおよび方法は、例えば、Burke, D., Dawson, D., & Stearns, T. (2000). *Methods in yeast genetics: a Cold Spring Harbor Laboratory course manual*. Plainview, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Pressに記載されている。

10

【0033】

本発明の方法で使用するための発現ベクターは、形質転換された酵母株を特定するための選択可能な栄養要求性または薬物マーカーを含む酵母特異配列をさらに含む。薬物マーカーはさらに、酵母宿主細胞におけるベクターのコピー数を増幅するためにも用いることができる。

【0034】

対象となるポリペプチドコード配列は、酵母細胞におけるポリペプチドの発現を提供する転写および翻訳調節配列と機能的に連結される。これらのベクター成分としては、1つ以上の以下のものを挙げることができるが、これらに限定されるものではない：エンハンサーエレメント、プロモーター、および転写停止配列。例えばシグナル配列などのポリペプチドの分泌のための配列も含まれ得る。酵母複製起源は任意である。なぜなら、発現ベクターは多くの場合、酵母ゲノム中に組み入れられるからである。本発明の1つの実施形態では、対象となるポリペプチドは、酵母二倍体細胞からのポリペプチドの最適化された分泌を提供する配列に機能的に連結されるかまたは融合される。

20

【0035】

核酸は、別の核酸配列と機能的関係に置かれる場合に「機能的に連結」される。例えば、シグナル配列のDNAは、ポリペプチドの分泌に関与するプレタンパク質として発現される場合に、ポリペプチドのDNAと機能的に連結される。プロモーターまたはエンハンサーは、配列の転写に影響を及ぼす場合に、コード配列に機能的に連結される。一般的に、「機能的に連結された」とは、連結されるDNA配列が隣接し、分泌リーダーの場合、隣接し、リーディングフレーム中にあることを意味する。しかしながら、エンハンサーは隣接している必要はない。連結は、都合のよい制限部位でのライゲーションまたは当業者によく知られた当業者にPCR/組換え法(Gateway(登録商標)Technology; Invitrogen, Carlsbad California)によって達成される。そのような部位が存在しない場合、合成オリゴヌクレオチドアダプターまたはリンカーは慣例にしたがって使用される。

30

【0036】

プロモーターは、それらが機能的に連結された特定の核酸配列の転写および翻訳を制御する、構造遺伝子(一般的に約100~1000bp内)の開始コドンの上流(5')に位置する非翻訳配列である。そのようなプロモーターはいくつかのクラスに分類される：誘導性、構成的、および抑制性プロモーター(リプレッサーの不在に反応して転写レベルを増加させる)。誘導性プロモーターは、培養条件のある変化、例えば栄養素の存在もしくは不在または温度の変化に反応して、それらの制御下でDNAからの増大したレベルの転写を開始することができる。

40

【0037】

酵母プロモーター断片は、発現ベクターの相同的組換えおよび酵母ゲノム中の同じ部位への組み入れのための部位としての機能を果たすこともできる。あるいは、選択可能なマーカーは相同的組換えのための部位として使用される。ピキア形質転換はCregg et al. (1985) *Mol. Cell. Biol.* 5:3376-3385で記載されている。

【0038】

ピキア由来の好適なプロモーターの例としては、AOX1およびプロモーター(Cregg

50

et al. (1989) *Mol. Cell. Biol.* 9:1316-1323)、I C L 1 プロモーター (Menendez et al. (2003) *Yeast* 20(13):1097-108)、グリセルアルデヒド 3 リン酸デヒドロゲナーゼプロモーター (G A P) (Waterham et al. (1997) *Gene* 186(1):37-44)、ならびに F L D 1 プロモーター (Shen et al. (1998) *Gene* 216(1):93-102) が挙げられる。G A P プロモーターは強力な構成的プロモーターであり、A O X および F L D 1 プロモーターは誘導性である。

【 0 0 3 9 】

他の酵母プロモーターとしては、A D H 1、アルコールデヒドロゲナーゼ I I、G A L 4、P H O 3、P H O 5、P y k、およびそれら由来のキメラプロモーターが挙げられる。さらに、ほ乳動物、昆虫、植物、は虫類、両生類、ウイルス、および鳥類プロモーターなどの非酵母プロモーターを本発明で用いることができる。最も典型的には、プロモーターはほ乳動物プロモーター (発現された遺伝子に対して潜在的に内因性) を含むか、または酵母系で効率的な転写を提供する酵母もしくはウイルスプロモーターを含む。

【 0 0 4 0 】

対象となるポリペプチドは、組み換えによって、直接的だけではなく、異種性ポリペプチド、たとえば、シグナル配列、または成熟タンパク質またはポリペプチドの N 末端で特異的切断部位を有する他のポリペプチドとの融合ポリペプチドとしても産生することができる。一般的に、シグナル配列はベクターの成分であってもよいし、またはベクターに挿入されるポリペプチドコード配列の一部であってもよい。選択される異種性シグナル配列は、好ましくは宿主細胞内で利用可能な標準的経路のうちの 1 つによって認識され、プロセッシングされるものである。出芽酵母アルファ因子プレプロシグナルは、ピキア・パストリス (*P. pastoris*) 由来のさまざまな組み換えタンパク質の分泌で有効であることが証明されている。他の酵母シグナル配列としては、アルファ接合因子シグナル配列、インベルターゼシグナル配列、および他の分泌された酵母ポリペプチド由来のシグナル配列が挙げられるが、これらに限定されるものではない。さらに、これらのシグナルペプチド配列を操作して、二倍体酵母発現系で増強された分泌を提供することができる。対象となる他の分泌シグナルにはさらに、ほ乳動物シグナル配列も含まれ、これは分泌されるタンパク質に対して異種性であり得るか、または分泌されるタンパク質の天然の配列であり得る。シグナル配列はプレペプチド配列を含み得、場合によっては、プロペプチド配列も含み得る。免疫グロブリン鎖上で見いだされるシグナル配列、たとえば K 2 8 プレプロ毒素配列、P H A E、F A C E、ヒト M C P 1、ヒト血清アルブミンシグナル配列、ヒト I g 重鎖、ヒト I g 軽鎖などをはじめとする、多くのそのようなシグナル配列は当該技術分野で公知である。例えば、Hashimoto et. al. *Protein Eng* 11(2) 75 (1998); および Kobayashi et. al. *Therapeutic Apheresis* 2(4) 257 (1998) を参照のこと。

【 0 0 4 1 】

転写は、転写活性化因子配列をベクターに挿入することによって増大させることができる。これらの活性化因子は通常、約 1 0 ~ 3 0 0 b p の D N A のシス作用エレメントであり、これはプロモーターに作用して、その転写を増加させる。転写エンハンサーは、比較的配向および位置依存せず、転写単位に対して 5 ' および 3 '、イントロン内、ならびにコード配列自体内で見出される。エンハンサーをコード配列に対して 5 ' または 3 ' 位で発現ベクター中にスプライシングすることができるが、好ましくはプロモーターから部位 5 ' に位置する。

【 0 0 4 2 】

真核宿主細胞で使用される発現ベクターは、転写の停止のため、および m R N A の安定化のために必要な配列も含み得る。そのような配列は、通常、真核またはウイルス D N A または c D N A の非翻訳領域中の翻訳停止コドンに対して 3 ' から入手可能である。これらの領域は、m R N A の非翻訳部分においてポリアデニル化断片として転写されたヌクレオチドセグメントを含む。

【 0 0 4 3 】

1 つ以上の上記成分を含む好適なベクターの構築は、標準的ライゲーション技術または

PCR / 組換え法を利用する。単離されたプラスミドまたはDNA断片は、必要とされるプラスミドまたは組換え法によって生成するために望ましい形態で切断、調整、および再ライゲートされる。構築されたプラスミド中の正しい配列を確認する分析のために、ライゲーション混合物を使用して宿主細胞を形質転換し、適切な場合には成果を挙げた形質転換体を抗生物質耐性（例えば、アンピシリンまたはゼオシン）によって選択する。形質転換体からプラスミドを製造し、制限エンドヌクレアーゼ消化によって分析および / または配列決定する。

【0044】

断片の制限およびライゲーションの代替法として、att部位および組換え酵素に基づく組換え法を使用して、DNA配列をベクターに挿入することができる。そのような方法は、例えば、Landy (1989) Ann.Rev.Biochem. 58:913-949によって記載され、そして当業者に公知である。そのような方法は、ラムダおよび大腸菌コード化組換えタンパク質の混合物が介在する分子間DNA組換えを利用する。組換えは、相互作用DNA分子上の特定の付着 (att) 部位間で起こる。att部位の説明については、Weisberg and Landy (1983) Site-Specific Recombination in Phage Lambda, in Lambda II, Weisberg, ed. (Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Press), pp. 211-250を参照のこと。組換え後に、att部位が各親ベクターによって提供される配列から構成されるハイブリッド配列となるように、組換え部位に隣接するDNAセグメントが切り替えられる。組換えは、任意のトポロジーのDNA間で起こり得る。

【0045】

対象となる配列を適切なベクター中にライゲートし、特異的プライマーの使用によってattB部位を含むPCR産物を生成させ、att部位を含む適切なベクターにクローンされたcDNAライブラリーを生成させるなどによって、対象となる配列中にatt部位を導入することができる。

【0046】

フォールディングとは、本明細書中で用いられる場合、アミノ酸残基間の相互作用が構造を安定化させるように作用する、ポリペプチドおよびタンパク質の三次元構造を指す。構造の決定には非共有相互作用が重要であるが、通常、対象となるタンパク質は2つのシステイン残基によって形成される分子内および / または分子間共有ジスルフィド結合を有する。天然に存在するタンパク質およびポリペプチドまたはそれらの誘導体および変異体に関して、適切なフォールディングは、典型的には最適の生物学的活性をもたらす配置であり、たとえばリガンド結合、酵素活性などの活性に関するアッセイによって都合よくモニターすることができる。

【0047】

場合によっては、たとえば所望の産物が合成起源のものである場合、生物学的活性に基づくアッセイはあまり意味がない。そのような分子の適切なフォールディングは物理的特性、エネルギー的考察、モデリング研究などに基づいて決定することができる。

【0048】

発現宿主は、フォールディングおよびジスルフィド結合形成を増強する1つ以上の酵素、すなわちフォルダーゼ、シャペロニンなどをコード化する配列の導入によってさらに修飾することができる。そのような配列は、当該技術分野で公知のように、ベクター、マーカーなどを使用して、酵母宿主細胞において構成的または誘導的に発現させることができる。好ましくは、所望の発現パターンに十分な転写調節エレメントを含む配列を、標的化法によって酵母ゲノムに安定して組み入れる。

【0049】

例えば、真核PDIは、タンパク質システイン酸化およびジスルフィド結合異性化の効率的な触媒であるだけでなく、シャペロン活性も示す。PDIの同時発現は、複数のジスルフィド結合を有する活性なタンパク質の産生を促進することができる。BIP (免疫グロブリン重鎖結合タンパク質)、シクロフィリンなどの発現も興味深い。本発明の1つの実施形態では、一倍体親株のそれぞれは、異なるフォールディング酵素を発現し、たとえ

10

20

30

40

50

ば、一方の株はB I Pを発現する可能性があり、他方の株はP D Iまたはそれらの組み合わせを発現する可能性がある。

【 0 0 5 0 】

「所望のタンパク質」または「所望の抗体」という用語は、交換可能に使用され、一般的に、標的、すなわちC G R Pまたはキメラもしくはヒト化抗体または本明細書中で記載されるようなそれら由来の結合部分に対して特異的な親抗体を指す。「抗体」という用語は、エピトープとぴったり合い、エピトープを認識する特定の形状を有する任意のポリペプチド鎖含有分子構造を包含することが意図され、この場合、1つ以上の非共有結合相互作用が分子構造とエピトープとの間の複合体を安定化させる。原型抗体分子はイムノグロブリンであり、あらゆる供給源、たとえばヒト、げっ歯類、ウサギ、ウシ、ヒツジ、ブタ、イヌ、他の哺乳動物、ニワトリ、他の鳥類など由来の全種類のイムノグロブリン、I g G、I g M、I g A、I g E、I g Dなどが「抗体」とみなされる。本発明による出発物質として有用な抗体を産生するための好ましいソースはウサギである。多くの抗体コード配列が記載されている。そして他のものは当該技術分野で周知の方法によって生じさせることができる。それらの例としては、キメラ抗体、ヒト抗体および他の非ヒト哺乳動物抗体、ヒト化抗体、単鎖抗体（たとえばs c F v）、キャメルボディ、ナノボディ、I g N A R（サメ由来の単鎖抗体）、小型モジュラー免疫薬剤（SMIP）、ならびに抗体断片、たとえばF a b、F a b'、F（a b'）₂などが挙げられる。Streltsov VA, et al., Structure of a shark IgNAR antibody variable domain and modeling of an early-developmental isotype, Protein Sci. 2005 Nov;14(11):2901-9. Epub 2005 Sep 30、Gree nberg AS, et al., A new antigen receptor gene family that undergoes rearrangement and extensive somatic diversification in sharks, Nature. 1995 Mar 9;374(6518):168-73、Nuttall SD, et al., Isolation of the new antigen receptor from wobbegong sharks, and use as a scaffold for the display of protein loop libraries, Mol Immunol. 2001 Aug;38(4):313-26、Hamers-Casterman C, et al., Naturally occurring antibodies devoid of light chains, Nature. 1993 Jun 3;363(6428):446-8、Gill DS, et al., Biopharmaceutical Drug discovery using novel protein scaffolds, Curr Opin Biotechnol. 2006 Dec; 17(6):653-8. Epub 2006 Oct 19を参照のこと。

【 0 0 5 1 】

例えば、抗体または抗原結合断片は、遺伝子工学によって産生することができる。この技術では、他の方法と同様に、抗体産生細胞を所望の抗原または免疫原に対して敏感にする。抗体産生細胞から単離されたメッセンジャーRNAをテンプレートとして用いて、P C R増幅を使用してc D N Aを作成する。増幅された免疫グロブリンc D N Aの適切な切片を発現ベクター中に挿入することによって、それぞれが初期抗原特異性を保持する1つの重鎖遺伝子と1つの軽鎖遺伝子とを含むベクターのライブラリーを産生する。重鎖遺伝子ライブラリーを軽鎖遺伝子ライブラリーと組み合わせることによって、コンビナトリアルライブラリーを構築する。この結果、重および軽鎖を同時発現するクローン（抗体分子のF a b断片または抗原結合断片と類似する）のライブラリーが得られる。これらの遺伝子を保有するベクターを宿主細胞中に共形質移入する。抗体遺伝子合成が形質移入された宿主において誘導される場合、重および軽鎖タンパク質は自己組織化して、抗原または免疫原でのスクリーニングによって検出することができる活性な抗体を産生する。

【 0 0 5 2 】

対象となる抗体コード配列には、天然の配列によってコード化されるもの、ならびに遺伝子コードの縮重のために開示された核酸と配列が同一でない核酸、およびその変異体が含まれる。変異体ポリペプチドは、アミノ酸（a a）置換、付加または欠失を含み得る。アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換、あるいはグリコシル化部位を改変するため、または機能のために必要ではない1つ以上のシステイン残基の置換もしくは欠失によるミスフォールディングを最小限にするためなど、非必須アミノ酸を除外する置換であり得る。変異体は、タンパク質の特定の領域（たとえば、機能的ドメイン、触媒アミノ酸残基など）の増強された生物学的活性を保持または有するように設計することができる。変異体はさ

らに、本明細書中で開示されたポリペプチドの断片、特に生物学的に活性な断片および／または機能的ドメインに対応する断片も含む。クローンされた遺伝子のインビトロ突然変異生成のための技術は公知である。タンパク質分解に対するそれらの耐性を改善するため、または溶解特性を最適化するため、またはそれらを治療薬としてより好適にするために、通常の分子生物学的技術を使用して修飾されたポリペプチドも本主題の発明に含まれる。

【0053】

キメラ抗体は、1つの種の抗体産生細胞から得られる可変軽鎖および重鎖領域（ V_L および V_H ）を別の種由来の定常軽鎖および重鎖領域と組み合わせることによる組み換え手段によって作成することができる。典型的には、キメラ抗体は、主にヒトドメインを有する抗体を産生するために、げっ歯類またはウサギ可変領域およびヒト定常領域を利用する。そのようなキメラ抗体の産生は当該技術分野で周知であり、そして標準的手段によって達成することができる（たとえば、その全体が参照により本明細書中に組み込まれる米国特許第5,624,659号で記載されているとおり）。本発明のキメラ抗体のヒト定常領域は、IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4定常領域から選択することができることがさらに想定される。

【0054】

さらに多くのヒト様免疫グロブリンドメインを含むようにヒト化抗体を操作し、動物由来の抗体の相補性決定領域のみを組み入れる。これは、モノクローナル抗体の可変領域の超可変ループの配列を注意深く調査し、そしてそれらをヒト抗体鎖の構造に適合させることによって達成される。表面的には複雑であるが、プロセスは実際には簡単である。たとえば、参照により全体的に本明細書中に組み入れられる、米国特許第6,187,287号を参照のこと。

【0055】

全イムノグロブリン（またはそれらの組み換え型同等物）に加えて、エピトープ結合部位（たとえば、Fab'、 $(Fab')_2$ 、または他の断片）を含む免疫グロブリン断片を合成することができる。「断片」、または最小イムノグロブリンは、組み換え免疫グロブリン技術を利用して設計することができる。たとえば、本発明で使用するための「Fv」イムノグロブリンは、融合した可変軽鎖領域および可変重鎖領域を合成することによって産生することができる。抗体の組み合わせ、たとえば2つの異なるFv特異性を含む二重特異抗体も興味深い。本発明の別の実施形態では、SMIP（小分子免疫薬）、キャメルボディ、ナノボディ、およびIgNARが免疫グロブリン断片に含まれる。

【0056】

イムノグロブリンおよびそれらの断片は、翻訳後に修飾して、たとえば化学リンカーなどのエフェクター部分、蛍光色素、酵素、毒素、基質、生物発光物質、放射性物質、化学発光部分などの検出可能な部分を付加することができるか、またはストレプトアビジン、アビジン、もしくはビオチンなどの特異的結合部分などを本発明の方法および組成物で利用することができる。さらなるエフェクター分子の例を以下で提供する。

【0057】

遺伝子コードにしたがったポリヌクレオチド配列の翻訳によってポリペプチド配列が得られる（すなわち、ポリヌクレオチド配列がポリペプチド配列を「コード化」する場合、ポリヌクレオチド配列はポリペプチド配列に「対応」し、2つの配列が同じポリペプチド配列をコード化する場合、1つのポリヌクレオチド配列は別のポリヌクレオチド配列に「対応」する）。

【0058】

DNA構築物の「異種性」領域またはドメインは、更に大きなDNA分子の内部の識別可能なセグメントであって、自然界ではその更に大きなDNA分子に伴って見いだされないセグメントである。したがって、異種性領域がほ乳動物遺伝子をコード化する場合、遺伝子は通常、供給源生物のゲノムにおいてほ乳動物ゲノムDNAに隣接しないDNAに隣接する。異種性領域の別の例は、コード配列自体が自然界で見出されない構築物である（

10

20

30

40

50

例えば、ゲノムコード配列がイントロンを含む cDNA、または天然の遺伝子と異なるコドンを含む合成配列)。対立遺伝子変異または自然発生的な突然変異事象は、本明細書中で定義される DNA の異種性領域を生じさせない。

【0059】

「コード配列」は、(遺伝子コードを考慮して)タンパク質もしくはペプチド配列に対応するかまたはコード化するコドンのインフレーム配列である。2つのコード配列は、その配列またはそれらの相補配列が同じアミノ酸配列をコード化する場合、互いに対応する。コード配列は適切な調節配列と関連して転写され、ポリペプチドに翻訳され得る。ポリアデニル化シグナルおよび転写停止配列は通常、コード配列に対して 3' 側に位置する。「プロモーター配列」は、細胞中の RNA ポリメラーゼに結合することができ、下流 (3' 方向) コード配列の転写を開始することができる DNA 調節領域である。プロモーター配列は、典型的にはコード配列の転写に影響を及ぼす調節分子 (例えば、転写因子) の結合のためのさらなる部位を含む。RNA ポリメラーゼが細胞中のプロモーター配列と結合し、コード配列を mRNA に転写し、これが次にコード配列によってコード化されるタンパク質に翻訳される場合、コード配列はプロモーター配列の「制御下」にあるか、またはプロモーターに「機能的に連結」される。

【0060】

ベクターを使用して、DNA、RNA またはタンパク質などの外来物質を、生物または宿主細胞に導入する。典型的なベクターとしては、組み換えウイルス (ポリヌクレオチドに関して) およびリポソーム (ポリペプチドに関して) が挙げられる。「DNA ベクター」は、別のポリヌクレオチドセグメントを結合させて、結合したセグメントの複製をもたらすことができるプラスミド、ファージまたはコスミッドなどのレプリコンである。「発現ベクター」は、適切な宿主細胞によってポリペプチド合成をおこなう調節配列を含む DNA ベクターである。これは、通常、RNA ポリメラーゼに結合し、mRNA の転写を開始するプロモーター、ならびに mRNA のポリペプチド (複数可) への翻訳をおこなうリポソーム結合部位および開始シグナルを意味する。ポリヌクレオチド配列を発現ベクターに適切な部位で、正しいリーディングフレーム中で組み入れ、続いてベクターによって適切な宿主細胞を形質転換して、前記ポリヌクレオチド配列によってコード化されるポリペプチドの産生が可能になる。

【0061】

ポリヌクレオチド配列の「増幅」は、複数コピーの特定の核酸配列のインビトロ産生である。増幅された配列は、通常、DNA の形態である。そのような増幅を実施するためのさまざまな技術が、Van Brunt (1990, Bio/Technol., 8(4):291-294) による総説に記載されている。ポリメラーゼ連鎖反応すなわち PCR は核酸増幅のプロトタイプであり、本明細書における PCR の使用は、他の好適な増幅技術の例とみなされるべきである。

【0062】

脊椎動物における抗体の一般構造は、現在、十分に理解されている (Edelman, G. M., Ann. N.Y. Acad. Sci., 190: 5 (1971))。抗体は、分子量約 23,000 ダルトンの 2 本の同一の軽いポリペプチド鎖 (「軽鎖」)、および分子量 53,000 ~ 70,000 の 2 本の同一の重い鎖 (「重鎖」) からなる。4 本の鎖は、ジスルフィド結合によって「Y」字型に結合し、ここで、軽鎖が「Y」字型の開口部分から始まる重鎖を囲む。「Y」字型の「枝」部分は F_ab 領域と呼ばれている。「Y」字型の幹部分は F_c 領域と呼ばれている。アミノ酸配列の配向は、「Y」字型の頂点の N 末端から各鎖の底部へと向かう。N 末端は、それを惹起する抗原に対する特異性を有する可変領域を有し、約 100 アミノ酸の長さであり、軽鎖と重鎖との間で若干の変動があり、また抗体ごとに若干変動がある。

【0063】

可変領域は、各鎖中で鎖の残りの長さに及び、抗体の特定のクラス内で抗体の特異性 (すなわち、それを惹起する抗原) によって変化しない定常領域に連結される。免疫グロブリン分子のクラスを決定する定常領域の 5 つの公知主要クラスがある (、 μ 、 、 、

10

20

30

40

50

および（ガンマ、ミュー、アルファ、デルタ、またはイプシロン）重鎖定常領域に対応するIgG、IgM、IgA、IgD、およびIgE）。定常領域またはクラスは、相補体の活性化（Kabat, E. A., Structural Concepts in Immunology and Immunochemistry, 2nd Ed., p. 413-436, Holt, Rinehart, Winston (1976)）、および他の細胞応答（Andrews, D. W., et al., Clinical Immunobiology, pp 1-18, W. B. Sanders (1980); Kohl, S., et al., Immunology, 48: 187 (1983)）を含む抗体のその後のエフェクター機能を決定する；一方、可変領域はそれが反応する抗原を決定する。軽鎖は、（カッパ）または（ラムダ）のいずれかとして分類される。各重鎖クラスは、カッパまたはラムダ軽鎖のいずれかをを用いて調製することができる。軽鎖および重鎖は互いに共有結合し、2本の重鎖の「テール」部分は、ハイブリドーマによるかまたはB細胞によるかのいずれかでイムノグロブリンが産生される場合に、共有ジスルフィド結合によって互いに結合される。

10

【0064】

「可変領域」または「VR」という表現は、抗体を抗原に結合するのに直接関与する、抗体中の軽鎖および重鎖の各対内のドメインを指す。各重鎖は1端で可変ドメイン（V_H）と、それに続いて複数の定常ドメインを有する。各軽鎖は1端で可変ドメイン（V_L）と、その他端で定常ドメインを有し；軽鎖の定常ドメインは、重鎖の第一定常ドメインと整列し、この軽鎖可変ドメインは重鎖の可変ドメインと整列する。

【0065】

「相補性決定領域」、「超可変領域」、または「CDR」という表現は、抗体の軽鎖および重鎖の可変領域で見いだされる1つ以上の超可変または相補性決定領域（CDR）を指す（Kabat, E. A. et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, Md., (1987)を参照のこと）。これらの表現は、Kabat et al.によって定義される超可変領域（“Sequences of Proteins of Immunological Interest,” Kabat E., et al., US Dept. of Health and Human Services, 1983）または抗体の3次元構造における超可変ループ（Chothia and Lesk, J Mol. Biol. 196 901-917 (1987)）を含む。各鎖中のCDRは、フレームワーク領域によってごく近接して保持され、他の鎖からのCDRとともに、抗原結合部位の形成に寄与する。CDR内に、抗体-抗原相互作用でCDRによって使用される重要な接触残基である選択性決定領域（SDR）として記載されているえり抜きのアミノ酸がある（Kashmiri, S., Methods, 36:25-34 (2005)）。

20

30

【0066】

「フレームワーク領域」または「FR」という表現は、抗体の軽鎖および重鎖の可変領域内の1つ以上のフレームワーク領域を指す（Kabat, E. A. et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, Md., (1987)を参照のこと）。これらの表現は、抗体の軽鎖および重鎖の可変領域内のCDR間に挿入されたアミノ酸配列領域を含む。

【0067】

CGRPへの結合活性を有する抗CGRP抗体およびその結合断片

抗体Ab1

1つの実施形態では、本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変軽鎖配列を有するキメラ抗体を包含する：QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTGFTLTISDLECADAAATYYCLGSYDCSSGDC FVF GGGTEVVVKR（配列番号1）。

40

【0068】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む軽鎖配列を有するキメラ抗体も包含する：QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTGFTLTISDLECADAAATYYCLGSYDCSSGDC FVF GGGTEVVVKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY P

50

REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号2)

。

【0069】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変重鎖配列を有するキメラ抗体をさらに包含する：QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRASSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGP

【0070】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む重鎖配列を有するキメラ抗体も包含する：QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWIGVIGINDNTYYASWAKGRFTISRASSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGP GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT

【0071】

本発明は、配列番号1の可変軽鎖配列もしくは配列番号2の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号5、配列番号6、および配列番号7のポリペプチド配列のうちの1つ以上、ならびに/または配列番号3の可変重鎖配列もしくは配列番号4の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号8、配列番号9、および配列番号10のポリペプチド配列のうちの1つ以上、またはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体をさらに企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはその断片は、上記のCDR、可変重鎖配列および可変軽鎖配列、ならびに重鎖配列および軽鎖配列のうちの(全てを含む)1つ以上の組合せを含む、あるいはそれらの組合せからなる。

【0072】

本発明はCGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片も企図する。本発明の1つの実施形態では、本発明の抗体断片は配列番号1または配列番号2のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体断片は配列番号3または配列番号4のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。

【0073】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号1の可変軽鎖配列または配列番号2の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号5、配列番号6、および配列番号7のポリペプチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0074】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号3の可変重鎖配列または配列番号4の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号8、配列番号9、および配列番号10のポリペプチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの1つ以上か

10

20

30

40

50

らなる。

【0075】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片のうちの1つ以上を包含する抗体断片も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、次の抗体断片のうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号1の可変軽鎖領域；配列番号3の可変重鎖領域；配列番号1の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号5、配列番号6、および配列番号7）；および配列番号3の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号8、配列番号9、および配列番号10）。

【0076】

本発明の特に好ましい実施形態では、キメラ抗CGRP抗体は、配列番号2および配列番号4を含み、あるいはそれらからなり、本明細書に記載される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb1である。

【0077】

本発明のさらなる特に好ましい実施形態では、抗体断片はCGRPへの結合特異性を有するFab断片（抗原結合断片）を含む、あるいはそれからなる。抗体Ab1に関して、Fab断片は配列番号1の可変軽鎖配列および配列番号3の可変重鎖配列を含む。本発明のこの実施形態は、CGRPへの結合特異性を保持したままでの、前記Fab中の配列番号1および/または配列番号3への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。

【0078】

本明細書において（下に）記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、Ab1の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab1などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株における発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

【0079】

抗体Ab2

1つの実施形態では、本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変軽鎖配列を有するヒト化抗体を包含する：QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCSQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDC FVF GGGTKVEIKR（配列番号11）。

【0080】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む軽鎖配列を有するヒト化抗体も包含する：QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCSQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDC FVF GGGTKVEIKRTVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSSPVTKSFNRGEC（配列番号12）。

【0081】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変重鎖配列を有するヒト化抗体をさらに包含する：EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAVSGLDLS SY YMQWVRQAPGKGLEWVGVI GINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVY LQMNSLR AEDTAVYFCARGDIWGQGT LVT VSS（配列番号13）。

【0082】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む重鎖配列を有するヒト化抗体も包含する：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVI GINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVYLQMNSLR AEDTAVYFCARGDIWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号14)。

【0083】

本発明は、配列番号11の可変軽鎖配列もしくは配列番号12の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号15、配列番号16、および配列番号17のポリペプチド配列のうちの1つ以上、ならびに/または配列番号13の可変重鎖配列もしくは配列番号14の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号18、配列番号19、および配列番号20のポリペプチド配列のうちの1つ以上、またはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体をさらに企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはその断片は、上記のCDR、可変重鎖配列および可変軽鎖配列、ならびに重鎖配列および軽鎖配列のうちの(全てを含む)1つ以上の組合せを含む、あるいはそれらの組合せからなる。

【0084】

本発明はCGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片も企図する。本発明の1つの実施形態では、本発明の抗体断片は配列番号11または配列番号12のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体断片は配列番号13または配列番号14のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。

【0085】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号11の可変軽鎖配列または配列番号12の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号15、配列番号16、および配列番号17のポリペプチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0086】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号13の可変重鎖配列または配列番号14の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号18、配列番号19、および配列番号20のポリペプチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0087】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片のうちの1つ以上を包含する抗体断片も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、次の抗体断片のうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号11の可変軽鎖領域；配列番号13の可変重鎖領域；配列番号11の可変軽鎖領域の相補性決定領域(配列番号15、配列番号16、および配列番号17)；および配列番号13の可変重鎖領域の相補性決定領域(配列番号18、配列番号19、および配列番号20)。

【0088】

本発明の特に好ましい実施形態では、ヒト化抗CGRP抗体は、配列番号12および配列番号14を含み、あるいはそれらからなり、本明細書に記載される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb2である。

【0089】

本発明のさらなる特に好ましい実施形態では、抗体断片はCGRPへの結合特異性を有するFab断片（抗原結合断片）を含む、あるいはそれからなる。抗体Ab2に関して、Fab断片は配列番号11の可変軽鎖配列および配列番号13の可変重鎖配列を含む。本発明のこの実施形態は、CGRPへの結合特異性を保持したままでの、前記Fab中の配列番号11および/または配列番号13への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。

10

【0090】

本明細書において（下に）記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、Ab2の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab2などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株における発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

【0091】

抗体Ab3

20

1つの実施形態では、本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変軽鎖配列を有するヒト化抗体を包含する：QVLTQSPSSLSASVGDRVITINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPKGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKR（配列番号21）。

【0092】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む軽鎖配列を有するヒト化抗体も包含する：QVLTQSPSSLSASVGDRVITINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPKGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSSPVTKSFNRGEC（配列番号22）。

30

【0093】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変重鎖配列を有するヒト化抗体をさらに包含する：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVI GINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVY LQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGT L VTVSS（配列番号23）。

40

【0094】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む重鎖配列を有するヒト化抗体も包含する：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVI GINDNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVY LQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGT L VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSLVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKHTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD

50

W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P
P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K
T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L
H N H Y T Q K S L S L S P G K (配列番号 2 4) 。

【 0 0 9 5 】

本発明は、配列番号 2 1 の可変軽鎖配列もしくは配列番号 2 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 2 5、配列番号 2 6、および配列番号 2 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、ならびに / または配列番号 2 3 の可変重鎖配列もしくは配列番号 2 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (C D R、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 2 8、配列番号 2 9、および配列番号 3 0 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、またはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体をさらに企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはその断片は、上記の C D R、可変重鎖配列および可変軽鎖配列、ならびに重鎖配列および軽鎖配列のうちの (全てを含む) 1 つ以上の組合せを含む、あるいはそれらの組合せからなる。

10

【 0 0 9 6 】

本発明は C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、本発明の抗体断片は配列番号 2 1 または配列番号 2 2 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体断片は配列番号 2 3 または配列番号 2 4 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。

20

【 0 0 9 7 】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 2 1 の可変軽鎖配列または配列番号 2 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 2 5、配列番号 2 6、および配列番号 2 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【 0 0 9 8 】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 2 3 の可変重鎖配列または配列番号 2 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (C D R、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 2 8、配列番号 2 9、および配列番号 3 0 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

30

【 0 0 9 9 】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片のうちの 1 つ以上を包含する抗体断片も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、次の抗体断片のうちの 1 つ、2 つ、3 つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号 2 1 の可変軽鎖領域；配列番号 2 3 の可変重鎖領域；配列番号 2 1 の可変軽鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 2 5、配列番号 2 6、および配列番号 2 7) ；および配列番号 2 3 の可変重鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 2 8、配列番号 2 9、および配列番号 3 0) 。

40

【 0 1 0 0 】

本発明の特に好ましい実施形態では、キメラ抗 C G R P 抗体は、配列番号 2 2 および配列番号 2 4 を含み、あるいはそれらからなり、本明細書に記載される生物学的活性のうちの少なくとも 1 つを有する A b 3 である。

【 0 1 0 1 】

本発明のさらなる特に好ましい実施形態では、抗体断片は C G R P への結合特異性を有する F a b 断片 (抗原結合断片) を含む、あるいはそれらからなる。抗体 A b 3 に関して、F a b 断片は配列番号 2 1 の可変軽鎖配列および配列番号 2 3 の可変重鎖配列を含む。本発明のこの実施形態は、C G R P への結合特異性を保持したままでの、前記 F a b 中の配列番号 2 1 および / または配列番号 2 3 への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企

50

図する。

【 0 1 0 2 】

本明細書において（下に）記載される本発明の 1 つの実施形態では、F a b 断片は、A b 3 の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、A b 3 などの抗 C G R P 抗体またはその F a b 断片は、C H O 細胞、N S O 細胞もしくは H E K 2 9 3 細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株における発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

【 0 1 0 3 】

抗体 A b 4

1 つの実施形態では、本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変軽鎖配列を有するキメラ抗体を包含する：Q V L T Q T P S P V S A A V G S T V T I N C Q A S Q S V Y H N T Y L A W Y Q Q K P G Q P P K Q L I Y D A S T L A S G V P S R F S G S G S G T Q F T L T I S G V Q C N D A A A Y Y C L G S Y D C T N G D C F V F G G G T E V V V K R（配列番号 3 1）。

【 0 1 0 4 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む軽鎖配列を有するキメラ抗体も包含する：Q V L T Q T P S P V S A A V G S T V T I N C Q A S Q S V Y H N T Y L A W Y Q Q K P G Q P P K Q L I Y D A S T L A S G V P S R F S G S G S G T Q F T L T I S G V Q C N D A A A Y Y C L G S Y D C T N G D C F V F G G G T E V V V K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C（配列番号 3 2）。

【 0 1 0 5 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変重鎖配列を有するキメラ抗体をさらに包含する：Q S L E E S G G R L V T P G T P L T L T C S V S G I D L S G Y Y M N W V R Q A P G K G L E W I G V I G I N G A T Y Y A S W A K G R F T I S K T S S T T V D L K M T S L T T E D T A T Y F C A R G D I W G P G T L V T V S S（配列番号 3 3）。

【 0 1 0 6 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む重鎖配列を有するキメラ抗体も包含する：Q S L E E S G G R L V T P G T P L T L T C S V S G I D L S G Y Y M N W V R Q A P G K G L E W I G V I G I N G A T Y Y A S W A K G R F T I S K T S S T T V D L K M T S L T T E D T A T Y F C A R G D I W G P G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K（配列番号 3 4）。

【 0 1 0 7 】

本発明は、配列番号 3 1 の可変軽鎖配列もしくは配列番号 3 2 の軽鎖配列の相補性決定領域（C D R、すなわち超可変領域）に対応する配列番号 3 5、配列番号 3 6、および配列番号 3 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、ならびに / または配列番号 3 3 の可変重鎖配列もしくは配列番号 3 4 の重鎖配列の相補性決定領域（C D R、すなわち超可変領

10

20

30

40

50

域)に対応する配列番号38、配列番号39、および配列番号40のポリペプチド配列のうち1つ以上、またはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体をさらに企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはその断片は、上記のCDR、可変重鎖配列および可変軽鎖配列、ならびに重鎖配列および軽鎖配列のうちの(全てを含む)1つ以上の組合せを含む、あるいはそれらの組合せからなる。

【0108】

本発明はCGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片も企図する。本発明の1つの実施形態では、本発明の抗体断片は配列番号31または配列番号32のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体断片は配列番号33または配列番号34のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。

10

【0109】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号31の可変軽鎖配列または配列番号32の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号35、配列番号36、および配列番号37のポリペプチド配列のうち1つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうち1つ以上からなる。

【0110】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号33の可変重鎖配列または配列番号34の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号38、配列番号39、および配列番号40のポリペプチド配列のうち1つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうち1つ以上からなる。

20

【0111】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片のうち1つ以上を包含する抗体断片も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、次の抗体断片のうち1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号31の可変軽鎖領域；配列番号33の可変重鎖領域；配列番号31の可変軽鎖領域の相補性決定領域(配列番号35、配列番号36、および配列番号37)；および配列番号33の可変重鎖領域の相補性決定領域(配列番号38、配列番号39、および配列番号40)。

30

【0112】

本発明の特に好ましい実施形態では、ヒト化抗CGRP抗体は、配列番号32および配列番号34を含み、あるいはそれらからなり、本明細書に記載される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb4である。

【0113】

本発明のさらなる特に好ましい実施形態では、抗体断片はCGRPへの結合特異性を有するFab断片(抗原結合断片)を含む、あるいはそれからなる。抗体Ab4に関して、Fab断片は配列番号31の可変軽鎖配列および配列番号33の可変重鎖配列を含む。本発明のこの実施形態は、CGRPへの結合特異性を保持したままでの、前記Fab中の配列番号31および/または配列番号33への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。

40

【0114】

本明細書において(下に)記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、Ab4の酵素(例えば、パパイン)消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab4などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞(例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母)および他の酵母株における発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)が含まれるが、これに限定されない。

50

【 0 1 1 5 】

抗体 A b 5

1つの実施形態では、本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変軽鎖配列を有するヒト化抗体を包含する：QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCSQASQSVYHNTYLAWEYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKR（配列番号41）。

【 0 1 1 6 】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む軽鎖配列を有するヒト化抗体も包含する：QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCSQASQSVYHNTYLAWEYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSSPVTKSFNRGEC（配列番号42）。

10

【 0 1 1 7 】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変重鎖配列を有するヒト化抗体をさらに包含する：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYVMNWVRQAPGKGLEWVGVIHINGATYYASWAKGRFTISRDNSTKTTVYLQMNSLR AEDTAVYFCARGDIWGQGTLLVTVSS（配列番号43）。

20

【 0 1 1 8 】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む重鎖配列を有するヒト化抗体も包含する：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYVMNWVRQAPGKGLEWVGVIHINGATYYASWAKGRFTISRDNSTKTTVYLQMNSLR AEDTAVYFCARGDIWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSLVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV E PKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号44）。

30

【 0 1 1 9 】

本発明は、配列番号41の可変軽鎖配列もしくは配列番号42の軽鎖配列の相補性決定領域（CDR、すなわち超可変領域）に対応する配列番号45、配列番号46、および配列番号47のポリペプチド配列のうちの1つ以上、ならびに/または配列番号43の可変重鎖配列もしくは配列番号44の重鎖配列の相補性決定領域（CDR、すなわち超可変領域）に対応する配列番号48、配列番号49、および配列番号50のポリペプチド配列のうちの1つ以上、またはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体をさらに企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはその断片は、上記のCDR、可変重鎖配列および可変軽鎖配列、ならびに重鎖配列および軽鎖配列のうちの(全てを含む)1つ以上の組合せを含む、あるいはそれらの組合せからなる。

40

【 0 1 2 0 】

本発明はCGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片も企図する。本発明の1つの実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号41または配列番号42のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。本発明の別の実施形態では、本発明

50

の抗体断片は、配列番号 4 3 または配列番号 4 4 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。

【 0 1 2 1 】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 4 1 の可変軽鎖配列または配列番号 4 2 の軽鎖配列の相補性決定領域（C D R、すなわち超可変領域）に対応する配列番号 4 5、配列番号 4 6、および配列番号 4 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【 0 1 2 2 】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 4 3 の可変重鎖配列または配列番号 4 4 の重鎖配列の相補性決定領域（C D R、すなわち超可変領域）に対応する配列番号 4 8、配列番号 4 9、および配列番号 5 0 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【 0 1 2 3 】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片のうちの 1 つ以上を包含する抗体断片も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、次の抗体断片のうちの 1 つ、2 つ、3 つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号 4 1 の可変軽鎖領域；配列番号 4 3 の可変重鎖領域；配列番号 4 1 の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号 4 5、配列番号 4 6、および配列番号 4 7）；および配列番号 4 3 の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号 4 8、配列番号 4 9、および配列番号 5 0）。

【 0 1 2 4 】

本発明の特に好ましい実施形態では、キメラ抗 C G R P 抗体は、配列番号 4 2 および配列番号 4 4 を含み、あるいはそれらからなり、本明細書に記載される生物学的活性のうちの少なくとも 1 つを有する A b 5 である。

【 0 1 2 5 】

本発明のさらなる特に好ましい実施形態では、抗体断片は C G R P への結合特異性を有する F a b 断片（抗原結合断片）を含む、あるいはそれからなる。抗体 A b 5 に関して、F a b 断片は配列番号 4 1 の可変軽鎖配列および配列番号 4 3 の可変重鎖配列を含む。本発明のこの実施形態は、C G R P への結合特異性を保持したままでの、前記 F a b 中の配列番号 4 1 および / または配列番号 4 3 への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。

【 0 1 2 6 】

本明細書において（下に）記載される本発明の 1 つの実施形態では、F a b 断片は、A b 5 の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、A b 5 などの抗 C G R P 抗体またはその F a b 断片は、C H O 細胞、N S O 細胞もしくは H E K 2 9 3 細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株における発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

【 0 1 2 7 】

抗体 A b 6

1 つの実施形態では、本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変軽鎖配列を有するヒト化抗体を包含する：Q V L T Q S P S S L S A S V G D R V T I N C Q A S Q S V Y H N T Y L A W Y Q Q K P G K V P K Q L I Y D A S T L A S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D V A T Y Y C L G S Y D C T N G D C F V F G G G T K V E I K R（配列番号 5 1）。

【 0 1 2 8 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む軽鎖配列を

有するヒト化抗体も包含する：Q V L T Q S P S S L S A S V G D R V T I N C Q A S Q
S V Y H N T Y L A W Y Q Q K P G K V P K Q L I Y D A S T L A S G V P S R F S G S
G S G T D F T L T I S S L Q P E D V A T Y Y C L G S Y D C T N G D C F V F G G G
T K V E I K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P
R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L
S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C (配列番号 5 2
)。

【 0 1 2 9 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変重鎖配
列を有するヒト化抗体をさらに包含する：E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S
C A V S G I D L S G Y Y M N W V R Q A P G K G L E W V G V I G I N G A T Y Y A S
W A K G R F T I S R D N S K T T V Y L Q M N S L R A E D T A V Y F C A R G D I W
G Q G T L V T V S S (配列番号 5 3)。

10

【 0 1 3 0 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む重鎖配列を
有するヒト化抗体も包含する：E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A V S G
I D L S G Y Y M N W V R Q A P G K G L E W V G V I G I N G A T Y Y A S W A K G R
F T I S R D N S K T T V Y L Q M N S L R A E D T A V Y F C A R G D I W G Q G T L
V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E
P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S
L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D A R V E P K S C D K T H T C P P C P A P
E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E
V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D
W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P
P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K
T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L
H N H Y T Q K S L S L S P G K (配列番号 5 4)。

20

【 0 1 3 1 】

本発明は、配列番号 5 1 の可変軽鎖配列もしくは配列番号 5 2 の軽鎖配列の相補性決定
領域 (C D R 、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 5 5 、配列番号 5 6 、および配
列番号 5 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、ならびに / または配列番号 5 3 の可変
重鎖配列もしくは配列番号 5 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (C D R 、すなわち超可変領
域) に対応する配列番号 5 8 、配列番号 5 9 、および配列番号 6 0 のポリペプチド配列の
うちの 1 つ以上、またはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体をさらに企図する
。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはその断片は、上記の C D R 、可変重鎖
配列および可変軽鎖配列、ならびに重鎖配列および軽鎖配列のうちの (全てを含む) 1 つ以
上の組合せを含む、あるいはそれらの組合せからなる。

30

【 0 1 3 2 】

本発明は C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片も企図する。本発明の 1 つの
実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号 5 1 または配列番号 5 2 のポリペプチド配
列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。本発明の別の実施形態では、本発明
の抗体断片は、配列番号 5 3 または配列番号 5 4 のポリペプチド配列を含む、あるいはそ
のポリペプチド配列からなる。

40

【 0 1 3 3 】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、
配列番号 5 1 の可変軽鎖配列または配列番号 5 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R 、
すなわち超可変領域) に対応する配列番号 5 5 、配列番号 5 6 、および配列番号 5 7 のポ
リペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1
つ以上からなる。

【 0 1 3 4 】

50

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号53の可変重鎖配列または配列番号54の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号58、配列番号59、および配列番号60のポリペプチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0135】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片のうちの1つ以上を包含する抗体断片も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、次の抗体断片のうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号51の可変軽鎖領域；配列番号53の可変重鎖領域；配列番号51の可変軽鎖領域の相補性決定領域(配列番号55、配列番号56、および配列番号57)；および配列番号53の可変重鎖領域の相補性決定領域(配列番号58、配列番号59、および配列番号60)。

【0136】

本発明の特に好ましい実施形態では、ヒト化抗CGRP抗体は、配列番号52および配列番号54を含み、あるいはそれらからなり、本明細書に記載される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb6である。

【0137】

本発明のさらなる特に好ましい実施形態では、抗体断片はCGRPへの結合特異性を有するFab断片(抗原結合断片)を含む、あるいはそれらからなる。抗体Ab6に関して、Fab断片は配列番号51の可変軽鎖配列および配列番号53の可変重鎖配列を含む。本発明のこの実施形態は、CGRPへの結合特異性を保持したままでの、前記Fab中の配列番号51および/または配列番号53への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。

【0138】

本明細書において(下に)記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、Ab6の酵素(例えば、パパイン)消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab6などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞(例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母)および他の酵母株における発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)が含まれるが、これに限定されない。

【0139】

抗体Ab7

1つの実施形態では、本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変軽鎖配列を有するキメラ抗体を包含する：QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNNYLA WYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTGFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSTGDC FVF GGGTEVVVKR(配列番号61)。

【0140】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む軽鎖配列を有するキメラ抗体も包含する：QVLTQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNNYLA WYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGS GSGTGFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSTGDC FVF GGGTEVVVKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(配列番号62)。

【0141】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変重鎖配

列を有するキメラ抗体をさらに包含する：Q E Q L K E S G G R L V T P G T S L T L T C T V S G I D L S N H Y M Q W V R Q A P G K G L E W I G V V G I N G R T Y Y A S W A K G R F T I S R T S S T T V D L K M T R L T T E D T A T Y F C A R G D I W G P G T L V T V S S (配列番号 6 3)。

【 0 1 4 2 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む重鎖配列を有するキメラ抗体も包含する：Q E Q L K E S G G R L V T P G T S L T L T C T V S G I D L S N H Y M Q W V R Q A P G K G L E W I G V V G I N G R T Y Y A S W A K G R F T I S R T S S T T V D L K M T R L T T E D T A T Y F C A R G D I W G P G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K (配列番号 6 4)。

【 0 1 4 3 】

本発明は、配列番号 6 1 の可変軽鎖配列もしくは配列番号 6 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R 、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 6 5 、配列番号 6 6 、および配列番号 6 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、ならびに / または配列番号 6 3 の可変重鎖配列もしくは配列番号 6 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (C D R 、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 6 8 、配列番号 6 9 、および配列番号 7 0 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、またはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体をさらに企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはその断片は、上記の C D R 、可変重鎖配列および可変軽鎖配列、ならびに重鎖配列および軽鎖配列のうちの (全てを含む) 1 つ以上の組合せを含む、あるいはそれらの組合せからなる。

【 0 1 4 4 】

本発明は C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号 6 1 または配列番号 6 2 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号 6 3 または配列番号 6 4 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。

【 0 1 4 5 】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 6 1 の可変軽鎖配列または配列番号 6 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R 、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 6 5 、配列番号 6 6 、および配列番号 6 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【 0 1 4 6 】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 6 3 の可変重鎖配列または配列番号 6 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (C D R 、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 6 8 、配列番号 6 9 、および配列番号 7 0 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【 0 1 4 7 】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片のうちの 1 つ以上を包含する抗体断片も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、次の抗体断片のうちの 1 つ、2 つ、3 つ、または全てを含むそれより多くを包含する、

あるいはそれらからなる：配列番号 6 1 の可変軽鎖領域；配列番号 6 3 の可変重鎖領域；配列番号 6 1 の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号 6 5、配列番号 6 6、および配列番号 6 7）；および配列番号 6 3 の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号 6 8、配列番号 6 9、および配列番号 7 0）。

【 0 1 4 8 】

本発明の特に好ましい実施形態では、キメラ抗 C G R P 抗体は、配列番号 6 2 および配列番号 6 4 を含み、あるいはそれらからなり、本明細書に記載される生物学的活性のうちの少なくとも 1 つを有する A b 7 である。

【 0 1 4 9 】

本発明のさらなる特に好ましい実施形態では、抗体断片は C G R P への結合特異性を有する F a b 断片（抗原結合断片）を含む、あるいはそれらからなる。抗体 A b 7 に関して、F a b 断片は配列番号 6 1 の可変軽鎖配列および配列番号 6 3 の可変重鎖配列を含む。本発明のこの実施形態は、C G R P への結合特異性を保持したままでの、前記 F a b 中の配列番号 6 1 および / または配列番号 6 3 への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。

【 0 1 5 0 】

本明細書において（下に）記載される本発明の 1 つの実施形態では、F a b 断片は、A b 7 の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、A b 7 などの抗 C G R P 抗体またはその F a b 断片は、C H O 細胞、N S O 細胞もしくは H E K 2 9 3 細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株における発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

【 0 1 5 1 】

抗体 A b 8

1 つの実施形態では、本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変軽鎖配列を有するヒト化抗体を包含する：Q V L T Q S P S S L S A S V G D R V T I N C Q A S Q S V Y N Y N Y L A W Y Q Q K P G K V P K Q L I Y S T S T L A S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D V A T Y Y C L G S Y D C S T G D C F V F G G G T K V E I K R（配列番号 7 1）。

【 0 1 5 2 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む軽鎖配列を有するヒト化抗体も包含する：Q V L T Q S P S S L S A S V G D R V T I N C Q A S Q S V Y N Y N Y L A W Y Q Q K P G K V P K Q L I Y S T S T L A S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D V A T Y Y C L G S Y D C S T G D C F V F G G G T K V E I K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C（配列番号 7 2）。

【 0 1 5 3 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変重鎖配列を有するヒト化抗体をさらに包含する：E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A V S G I D L S N H Y M Q W V R Q A P G K G L E W V G V V G I N G R T Y Y A S W A K G R F T I S R D N S K T T V Y L Q M N S L R A E D T A V Y F C A R G D I W G Q G T L V T V S S（配列番号 7 3）。

【 0 1 5 4 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む重鎖配列を有するヒト化抗体も包含する：E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A V S G I D L S N H Y M Q W V R Q A P G K G L E W V G V V G I N G R T Y Y A S W A K G R F T I S R D N S K T T V Y L Q M N S L R A E D T A V Y F C A R G D I W G Q G T L

V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E
P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S
L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P
E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E
V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D
W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P
P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K
T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L
H N H Y T Q K S L S L S P G K (配列番号 7 4)。

【 0 1 5 5 】

10

本発明は、配列番号 7 1 の可変軽鎖配列または配列番号 7 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 7 5、配列番号 7 6、および配列番号 7 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、ならびに / または配列番号 7 3 の可変重鎖配列または配列番号 7 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (C D R、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 7 8、配列番号 7 9、および配列番号 8 0 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、またはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体をさらに企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはその断片は、上記の C D R、可変重鎖配列および可変軽鎖配列、ならびに重鎖配列および軽鎖配列のうちの (全てを含む) 1 つ以上の組合せを含む、あるいはそれらの組合せからなる。

【 0 1 5 6 】

20

本発明は C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号 7 1 または配列番号 7 2 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号 7 3 または配列番号 7 4 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。

【 0 1 5 7 】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 7 1 の可変軽鎖配列または配列番号 7 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 7 5、配列番号 7 6、および配列番号 7 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1

30

つ以上からなる。

【 0 1 5 8 】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 7 3 の可変重鎖配列または配列番号 7 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (C D R、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 7 8、配列番号 7 9、および配列番号 8 0 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1

つ以上からなる。

【 0 1 5 9 】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片のうちの 1 つ以上を包含する抗体断片も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、次の抗体断片のうちの 1 つ、2 つ、3 つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号 7 1 の可変軽鎖領域；配列番号 7 3 の可変重鎖領域；配列番号 7 1 の可変軽鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 7 5、配列番号 7 6、および配列番号 7 7) ；および配列番号 7 3 の可変重鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 7 8、配列番号 7 9、および配列番号 8 0) 。

40

【 0 1 6 0 】

本発明の特に好ましい実施形態では、ヒト化抗 C G R P 抗体は、配列番号 7 2 および配列番号 7 4 を含み、あるいはそれらからなり、本明細書に記載される生物学的活性のうちの少なくとも 1 つを有する A b 8 である。

【 0 1 6 1 】

50

本発明のさらなる特に好ましい実施形態では、抗体断片はCGRPへの結合特異性を有するFab断片（抗原結合断片）を含む、あるいはそれからなる。抗体Ab8に関して、Fab断片は配列番号71の可変軽鎖配列および配列番号73の可変重鎖配列を含む。本発明のこの実施形態は、CGRPへの結合特異性を保持したままでの、前記Fab中の配列番号71および/または配列番号73への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。

【0162】

本明細書において（下に）記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、Ab8の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab8などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株における発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

【0163】

抗体Ab9

1つの実施形態では、本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変軽鎖配列を有するキメラ抗体を包含する：QVLTQTSPSPVSAAVGSTVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFRGSGSGTGFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSRGDC FVF GGGTEVVVKR（配列番号81）。

【0164】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む軽鎖配列を有するキメラ抗体も包含する：QVLTQTSPSPVSAAVGSTVTINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFRGSGSGTGFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSRGDC FVF GGGTEVVVKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号82）。

【0165】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変重鎖配列を有するキメラ抗体をさらに包含する：QSL EESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIGLSSYYMQWVRQSPGRGLEWIGVIGSDGKTY YATWAKGRFTISKTSSTTVDLRMASLTTEDTATYFCTRGD IWGP GTLVTVSS（配列番号83）。

【0166】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む重鎖配列を有するキメラ抗体も包含する：QSL EESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIGLSSYYMQWVRQSPGRGLEWIGVIGSDGKTY YATWAKGRFTISKTSSTTVDLRMASLTTEDTATYFCTRGD IWGP GTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKHTCTCPCPAPEL LGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号84）。

【 0 1 6 7 】

本発明は、配列番号 8 1 の可変軽鎖配列もしくは配列番号 8 2 の軽鎖配列の相補性決定領域（C D R、すなわち超可変領域）に対応する配列番号 8 5、配列番号 8 6、および配列番号 8 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、ならびに / または配列番号 8 3 の可変重鎖配列もしくは配列番号 8 4 の重鎖配列の相補性決定領域（C D R、すなわち超可変領域）に対応する配列番号 8 8、配列番号 8 9、および配列番号 9 0 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、またはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体をさらに企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはその断片は、上記の C D R、可変重鎖配列および可変軽鎖配列、ならびに重鎖配列および軽鎖配列のうちの (全てを含む) 1 つ以上の組合せを含む、あるいはそれらの組合せからなる。

10

【 0 1 6 8 】

本発明は C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号 8 1 または配列番号 8 2 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号 8 3 または配列番号 8 4 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。

【 0 1 6 9 】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 8 1 の可変軽鎖配列または配列番号 8 2 の軽鎖配列の相補性決定領域（C D R、すなわち超可変領域）に対応する配列番号 8 5、配列番号 8 6、および配列番号 8 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

20

【 0 1 7 0 】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 8 3 の可変重鎖配列または配列番号 8 4 の重鎖配列の相補性決定領域（C D R、すなわち超可変領域）に対応する配列番号 8 8、配列番号 8 9、および配列番号 9 0 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【 0 1 7 1 】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片のうちの 1 つ以上を包含する抗体断片も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、次の抗体断片のうちの 1 つ、2 つ、3 つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号 8 1 の可変軽鎖領域；配列番号 8 3 の可変重鎖領域；配列番号 8 1 の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号 8 5、配列番号 8 6、および配列番号 8 7）；および配列番号 8 3 の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号 8 8、配列番号 8 9、および配列番号 9 0）。

30

【 0 1 7 2 】

本発明の特に好ましい実施形態では、キメラ抗 C G R P 抗体は配列番号 8 2 および配列番号 8 4 を含み、あるいはそれらからなり、本明細書に記載される生物学的活性のうちの少なくとも 1 つを有する A b 9、である。

40

【 0 1 7 3 】

本発明のさらなる特に好ましい実施形態では、抗体断片は C G R P への結合特異性を有する F a b 断片（抗原結合断片）を含む、あるいはそれからなる。抗体 A b 9 に関して、F a b 断片は配列番号 8 1 の可変軽鎖配列および配列番号 8 3 の可変重鎖配列を含む。本発明のこの実施形態は、C G R P への結合特異性を保持したままでの、前記 F a b 中の配列番号 8 1 および / または配列番号 8 3 への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。

【 0 1 7 4 】

本明細書において（下に）記載される本発明の 1 つの実施形態では、F a b 断片は、A b 9 の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、

50

A b 9 などの抗 C G R P 抗体またはその F a b 断片は、C H O 細胞、N S O 細胞もしくは H E K 2 9 3 細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株における発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

【 0 1 7 5 】

抗体 A b 1 0

1 つの実施形態では、本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変軽鎖配列を有するヒト化抗体を包含する：Q V L T Q S P S S L S A S V G D R V T I N C Q A S Q N V Y N N N Y L A W Y Q Q K P G K V P K Q L I Y S T S T L A S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D V A T Y Y C L G S Y D C S R G D C F V F G G G T K V E I K R（配列番号 9 1）。

10

【 0 1 7 6 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む軽鎖配列を有するヒト化抗体も包含する：Q V L T Q S P S S L S A S V G D R V T I N C Q A S Q N V Y N N N Y L A W Y Q Q K P G K V P K Q L I Y S T S T L A S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D V A T Y Y C L G S Y D C S R G D C F V F G G G T K V E I K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C（配列番号 9 2）。

20

【 0 1 7 7 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変重鎖配列を有するヒト化抗体をさらに包含する：E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A V S G I G L S S Y Y M Q W V R Q A P G K G L E W V G V I G S D G K T Y Y A T W A K G R F T I S R D N S K T T V Y L Q M N S L R A E D T A V Y F C T R G D I W G Q G T L V T V S S（配列番号 9 3）。

【 0 1 7 8 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む重鎖配列を有するヒト化抗体も包含する：E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A V S G I G L S S Y Y M Q W V R Q A P G K G L E W V G V I G S D G K T Y Y A T W A K G R F T I S R D N S K T T V Y L Q M N S L R A E D T A V Y F C T R G D I W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K（配列番号 9 4）。

30

40

【 0 1 7 9 】

本発明は、配列番号 9 1 の可変軽鎖配列もしくは配列番号 9 2 の軽鎖配列の相補性決定領域（C D R、すなわち超可変領域）に対応する配列番号 9 5、配列番号 9 6、および配列番号 9 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、ならびに / または配列番号 9 3 の可変重鎖配列もしくは配列番号 9 4 の重鎖配列の相補性決定領域（C D R、すなわち超可変領域）に対応する配列番号 9 8、配列番号 9 9、および配列番号 1 0 0 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、またはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体をさらに企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはその断片は、上記の C D R、可変重鎖配列および可変軽鎖配列、ならびに重鎖配列および軽鎖配列のうちの（全てを含む）1 つ

50

以上の組合せを含む、あるいはそれらの組合せからなる。

【0180】

本発明はCGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片も企図する。本発明の1つの実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号91または配列番号92のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号93または配列番号94のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。

【0181】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号91の可変軽鎖配列または配列番号92の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号95、配列番号96、および配列番号97のポリペプチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの1つ以上からなる。

10

【0182】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号93の可変重鎖配列または配列番号94の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号98、配列番号99、および配列番号100のポリペプチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0183】

20

本発明は、本明細書に記載される抗体断片のうちの1つ以上を包含する抗体断片も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、次の抗体断片のうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号91の可変軽鎖領域；配列番号93の可変重鎖領域；配列番号91の可変軽鎖領域の相補性決定領域(配列番号95、配列番号96、および配列番号97)；および配列番号93の可変重鎖領域の相補性決定領域(配列番号98、配列番号99、および配列番号100)。

【0184】

本発明の特に好ましい実施形態では、ヒト化抗CGRP抗体は、配列番号92および配列番号94を含み、あるいはそれらからなり、本明細書に記載される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb10である。

30

【0185】

本発明のさらなる特に好ましい実施形態では、抗体断片はCGRPへの結合特異性を有するFab断片(抗原結合断片)を含む、あるいはそれからなる。抗体Ab10に関して、Fab断片は配列番号91の可変軽鎖配列および配列番号93の可変重鎖配列を含む。本発明のこの実施形態は、CGRPへの結合特異性を保持したままでの、前記Fab中の配列番号91および/または配列番号93への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。

【0186】

本明細書において(下に)記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、Ab10の酵素(例えば、パパイン)消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab10などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞(例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母)および他の酵母株における発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)が含まれるが、これに限定されない。

40

【0187】

抗体Ab11

1つの実施形態では、本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変軽鎖配列を有するキメラ抗体を包含する：QVL TQTASPVSPA V

50

G S T V T I N C R A S Q S V Y Y N N Y L A W Y Q Q K P G Q P P K Q L I Y S T S T
L A S G V S S R F K G S G S G T Q F T L T I S D V Q C D D A A T Y Y C L G S Y D
C S N G D C F V F G G G T E V V V K R (配列番号 1 0 1) 。

【 0 1 8 8 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む軽鎖配列を有するキメラ抗体も包含する：Q V L T Q T A S P V S P A V G S T V T I N C R A S Q
S V Y Y N N Y L A W Y Q Q K P G Q P P K Q L I Y S T S T L A S G V S S R F K G S
G S G T Q F T L T I S D V Q C D D A A T Y Y C L G S Y D C S N G D C F V F G G G
T E V V V K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P
R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L
S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C (配列番号 1 0
2) 。

10

【 0 1 8 9 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変重鎖配列を有するキメラ抗体をさらに包含する：Q S L E E S G G R L V T P G G S L T L T C
T V S G I D V T N Y Y M Q W V R Q A P G K G L E W I G V I G V N G K R Y Y A S W
A K G R F T I S K T S S T T V D L K M T S L T T E D T A T Y F C A R G D I W G P
G T L V T V S S (配列番号 1 0 3) 。

【 0 1 9 0 】

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む重鎖配列を有するキメラ抗体も包含する：Q S L E E S G G R L V T P G G S L T L T C T V S G I
D V T N Y Y M Q W V R Q A P G K G L E W I G V I G V N G K R Y Y A S W A K G R F
T I S K T S S T T V D L K M T S L T T E D T A T Y F C A R G D I W G P G T L V T
V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V
T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G
T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L
L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K
F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D W L
N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S
R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T
P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N
H Y T Q K S L S L S P G K (配列番号 1 0 4) 。

20

30

【 0 1 9 1 】

本発明は、配列番号 1 0 1 の可変軽鎖配列もしくは配列番号 1 0 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R 、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 1 0 5 、配列番号 1 0 6 、および配列番号 1 0 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、ならびに / または配列番号 1 0 3 の可変重鎖配列もしくは配列番号 1 0 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (C D R 、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 1 0 8 、配列番号 1 0 9 、および配列番号 1 1 0 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、またはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体をさらに企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはその断片は、上記の C D R 、可変重鎖配列および可変軽鎖配列、ならびに重鎖配列および軽鎖配列のうちの (全てを含む) 1 つ以上の組合せを含む、あるいはそれらの組合せからなる。

40

【 0 1 9 2 】

本発明は C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号 1 0 1 または配列番号 1 0 2 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号 1 0 3 または配列番号 1 0 4 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。

【 0 1 9 3 】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、

50

配列番号 101 の可変軽鎖配列または配列番号 102 の軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 105、配列番号 106、および配列番号 107 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【0194】

本発明のさらなる実施形態では、CGRP に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 103 の可変重鎖配列または配列番号 104 の重鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 108、配列番号 109、および配列番号 110 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

10

【0195】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片のうちの 1 つ以上を包含する抗体断片も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、CGRP に対する結合特異性を有する抗体の断片は、次の抗体断片のうちの 1 つ、2 つ、3 つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号 101 の可変軽鎖領域；配列番号 103 の可変重鎖領域；配列番号 101 の可変軽鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 105、配列番号 106、および配列番号 107)；および配列番号 103 の可変重鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 108、配列番号 109、および配列番号 110)。

【0196】

本発明の特に好ましい実施形態では、キメラ抗 CGRP 抗体は、配列番号 102 および配列番号 104 を含み、あるいはそれらからなり、本明細書に記載される生物学的活性のうちの少なくとも 1 つを有する Ab11 である。

20

【0197】

本発明のさらなる特に好ましい実施形態では、抗体断片は CGRP への結合特異性を有する Fab 断片 (抗原結合断片) を含む、あるいはそれらからなる。抗体 Ab11 に関して、Fab 断片は配列番号 101 の可変軽鎖配列および配列番号 103 の可変重鎖配列を含む。本発明のこの実施形態は、CGRP への結合特異性を保持したままでの、前記 Fab 中の配列番号 101 および / または配列番号 103 への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。

【0198】

本明細書において (下に) 記載される本発明の 1 つの実施形態では、Fab 断片は、Ab11 の酵素 (例えば、パパイン) 消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab11 などの抗 CGRP 抗体またはその Fab 断片は、CHO 細胞、NSO 細胞もしくは HEK293 細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞 (例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母) および他の酵母株における発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) が含まれるが、これに限定されない。

30

【0199】

抗体 Ab12

1 つの実施形態では、本発明は、CGRP に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変軽鎖配列を有するヒト化抗体を包含する：QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTKVEIKR (配列番号 111)。

40

【0200】

本発明は、CGRP に対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む軽鎖配列を有するヒト化抗体も包含する：QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCRASQSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP

50

REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号 1 1 2)。

【0201】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変重鎖配列を有するヒト化抗体をさらに包含する：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWVGVI GVN GK RYYASWAKGRFTISRDN SKTTVY LQMNS LRAEDTAVYFCARGD IWGQGT LVT VSS (配列番号 1 1 3)。

【0202】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む重鎖配列を有するヒト化抗体も包含する：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDVTNYYMQWVRQAPGKGLEWVGVI GVN GK RYYASWAKGRFTISRDN SKTTVY LQMNS LRAEDTAVYFCARGD IWGQGT LVT VSS ASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 1 1 4)。

【0203】

本発明は、配列番号 1 1 1 の可変軽鎖配列もしくは配列番号 1 1 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 1 1 5、配列番号 1 1 6、および配列番号 1 1 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、ならびに / または配列番号 1 1 3 の可変重鎖配列もしくは配列番号 1 1 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 1 1 8、配列番号 1 1 9、および配列番号 1 2 0 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、またはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体をさらに企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはその断片は、上記の CDR、可変重鎖配列および可変軽鎖配列、ならびに重鎖配列および軽鎖配列のうちの (全てを含む) 1 つ以上の組合せを含む、あるいはそれらの組合せからなる。

【0204】

本発明は CGRP に対する結合特異性を有する抗体の断片も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号 1 1 1 または配列番号 1 1 2 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号 1 1 3 または配列番号 1 1 4 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。

【0205】

本発明のさらなる実施形態では、CGRP に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 1 1 1 の可変軽鎖配列または配列番号 1 1 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 1 1 5、配列番号 1 1 6、および配列番号 1 1 7 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【0206】

本発明のさらなる実施形態では、CGRP に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 1 1 3 の可変重鎖配列または配列番号 1 1 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 1 1 8、配列番号 1 1 9、および配列番号 1 2 0 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列

10

20

30

40

50

のうちの1つ以上からなる。

【0207】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片のうちの1つ以上を包含する抗体断片も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、次の抗体断片のうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号111の可変軽鎖領域；配列番号113の可変重鎖領域；配列番号111の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号115、配列番号116、および配列番号117）；および配列番号113の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号118、配列番号119、および配列番号120）。

【0208】

本発明の特に好ましい実施形態では、ヒト化抗CGRP抗体は、配列番号112および配列番号114を含み、あるいはそれらからなり、本明細書に記載される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb12である。

【0209】

本発明のさらなる特に好ましい実施形態では、抗体断片はCGRPへの結合特異性を有するFab断片（抗原結合断片）を含む、あるいはそれからなる。抗体Ab12に関して、Fab断片は配列番号111の可変軽鎖配列および配列番号113の可変重鎖配列を含む。本発明のこの実施形態は、CGRPへの結合特異性を保持したままでの、前記Fab中の配列番号111および/または配列番号113への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。

【0210】

本明細書において（下に）記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、Ab12の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab12などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株における発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

【0211】

抗体Ab13

1つの実施形態では、本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変軽鎖配列を有するキメラ抗体を包含する：AIVMTQTPTSSSKSVPVGDTVTINCQASESLYNNNALAWFQQKPGQP PKRLIYDASKLASGVPSRFSGGGSGTGFTLTISGVQCDDAATYYCGGYRSDSDVDGVAFAAGGTEVVVKR（配列番号121）。

【0212】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む軽鎖配列を有するキメラ抗体も包含する：AIVMTQTPTSSSKSVPVGDTVTINCQASESLYNNNALAWFQQKPGQP PKRLIYDASKLASGVPSRFSGGGSGTGFTLTLTISGVQCDDAATYYCGGYRSDSDVDGVAFAAGGTEVVVKRTVAAPSVFIFFPSPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号122）。

【0213】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変重鎖配列を有するキメラ抗体をさらに包含する：QSVEEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFDFSSSNAMWWVRQAPGKGLEWIGIIYNGDGSTYYASWVNGRFSISKTSSTTVTLQLNSLTVADTATYYCARDLDLWGPGTLVTVSS（配列番号123）。

【0214】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む重鎖配列を有するキメラ抗体も包含する：QSV E E S G G G L V Q P E G S L T L T C T A S G F D F S S N A M W W V R Q A P G K G L E W I G C I Y N G D G S T Y Y A S W V N G R F S I S K T S S T T V T L Q L N S L T V A D T A T Y Y C A R D L D L W G P G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K (配列番号124)。

10

【0215】

本発明は、配列番号121の可変軽鎖配列または配列番号122の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号125、配列番号126、および配列番号127のポリペプチド配列のうちの1つ以上、ならびに/または配列番号123の可変重鎖配列または配列番号124の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号128、配列番号129、および配列番号130のポリペプチド配列のうちの1つ以上、またはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体をさらに企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはその断片は、上記のCDR、可変重鎖配列および可変軽鎖配列、ならびに重鎖配列および軽鎖配列のうちの(全てを含む)1つ以上の組合せを含む、あるいはそれらの組合せからなる。

20

【0216】

本発明はCGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片も企図する。本発明の1つの実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号121または配列番号122のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体断片は、配列番号123または配列番号124のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。

30

【0217】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号121の可変軽鎖配列または配列番号122の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号125、配列番号126、および配列番号127のポリペプチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0218】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号123の可変重鎖配列または配列番号124の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)に対応する配列番号128、配列番号129、および配列番号130のポリペプチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの1つ以上からなる。

40

【0219】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片のうちの1つ以上を包含する抗体断片も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体の断片は、次の抗体断片のうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号121の可変軽鎖領域；配列番号123の可変重鎖領域；配列番号121の可変軽鎖領域の相補性決定領域(配列番号125、配列番号126、および配列番号127)；および配列番号123の可変重鎖領域の相補性決定領域(配列番号128、配列番号129、および配列番号130)。

50

【0220】

本発明の特に好ましい実施形態では、キメラ抗CGRP抗体は、配列番号122および配列番号124を含み、あるいはそれらからなり、本明細書に記載される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb13である。

【0221】

本発明のさらなる特に好ましい実施形態では、抗体断片はCGRPへの結合特異性を有するFab断片（抗原結合断片）を含む、あるいはそれからなる。抗体Ab13に関して、Fab断片は配列番号121の可変軽鎖配列および配列番号123の可変重鎖配列を含む。本発明のこの実施形態は、CGRPへの結合特異性を保持したままでの、前記Fab中の配列番号121および/または配列番号123への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。

10

【0222】

本明細書において（下に）記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、Ab13の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab13などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株における発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

【0223】

抗体Ab14

1つの実施形態では、本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変軽鎖配列を有するヒト化抗体を包含する：QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDC FVF GGGTKVEIKR（配列番号131）。

20

【0224】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む軽鎖配列を有するヒト化抗体も包含する：QVLTQSPSSLSASVGDRTVINCQASQNVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDC FVF GGGTKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号132）。

30

【0225】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む可変重鎖配列を有するヒト化抗体をさらに包含する：EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVI GSDGKTY YATWAKGRFTISRDN SKTTVYLQMNSLR AEDTAVYFC TRGDIWGQGTLVTVSS（配列番号133）。

40

【0226】

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有し、以下に示される配列を含む重鎖配列を有するヒト化抗体も包含する：EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAVSGIGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVI GSDGKTY YATWAKGRFTISRDN SKTTVYLQMNSLR AEDTAVYFC TRGDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKTHHTCP PCPAP ELLG GPSVF LFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE

50

V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D
W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P
P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K
T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L
H N H Y T Q K S L S L S P G K (配列番号 134)。

【0227】

本発明は、配列番号 131 の可変軽鎖配列もしくは配列番号 132 の軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 135、配列番号 136、および配列番号 137 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、ならびに / または配列番号 133 の可変重鎖配列もしくは配列番号 134 の重鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 138、配列番号 139、および配列番号 140 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上、またはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体をさらに企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはその断片は、上記の CDR、可変重鎖配列および可変軽鎖配列、ならびに重鎖配列および軽鎖配列のうちの (全てを含む) 1 つ以上の組合せを含む、あるいはそれらの組合せからなる。

10

【0228】

本発明は C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、本発明の抗体断片は配列番号 131 または配列番号 132 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体断片は配列番号 133 または配列番号 134 のポリペプチド配列を含む、あるいはそのポリペプチド配列からなる。

20

【0229】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 131 の可変軽鎖配列または配列番号 132 の軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 135、配列番号 136、および配列番号 137 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【0230】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、配列番号 133 の可変重鎖配列または配列番号 134 の重鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 138、配列番号 139、および配列番号 140 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリペプチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

30

【0231】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片のうちの 1 つ以上を包含する抗体断片も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体の断片は、次の抗体断片のうちの 1 つ、2 つ、3 つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号 131 の可変軽鎖領域；配列番号 133 の可変重鎖領域；配列番号 131 の可変軽鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 135、配列番号 136、および配列番号 137)；および配列番号 133 の可変重鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 138、配列番号 139、および配列番号 140)。

40

【0232】

本発明の特に好ましい実施形態では、ヒト化抗 C G R P 抗体は、配列番号 132 および配列番号 134 を含み、あるいはそれらからなり、本明細書に記載される生物学的活性のうちの少なくとも 1 つを有する A b 14 である。

【0233】

本発明のさらなる特に好ましい実施形態では、抗体断片は C G R P への結合特異性を有する F a b 断片 (抗原結合断片) を含む、あるいはそれからなる。抗体 A b 14 に関して、F a b 断片は配列番号 131 の可変軽鎖配列および配列番号 133 の可変重鎖配列を含む。本発明のこの実施形態は、C G R P への結合特異性を保持したままでの、前記 F a b

50

中の配列番号 1 3 1 および / または配列番号 1 3 3 への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。

【 0 2 3 4 】

本明細書において（下に）記載される本発明の 1 つの実施形態では、F a b 断片は、A b 1 4 の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、A b 1 4 などの抗 C G R P 抗体またはその F a b 断片は、C H O 細胞、N S O 細胞もしくは H E K 2 9 3 細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株における発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

10

【 0 2 3 5 】

別の実施形態では、抗体断片は、次の非限定の形態、すなわち、F a b 抗体形態、F a b ' 抗体形態、F (a b ')₂ 抗体形態、F v 形態および単鎖 F v 抗体形態のうちの 1 つ以上の形態で存在し得る。好ましい実施形態では、本明細書に記載される抗 C G R P 抗体は、以下に示される配列を含む 定常軽鎖配列をさらに含む：

V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K
V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H
K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C (配列番号 2 8 3) 。

【 0 2 3 6 】

別の好ましい実施形態では、本明細書に記載される抗 C G R P 抗体は、以下に示される配列を含む 1 定常重鎖ポリペプチド配列をさらに含む：

A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S
W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T
Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G
P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W
Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K
E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E
M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V
L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T
Q K S L S L S P G K (配列番号 2 8 4) 。

20

30

【 0 2 3 7 】

別の実施形態では、本発明は、配列番号 3、1 3、2 3、3 3、4 3、5 3、6 3、7 3、8 3、9 3、1 0 3、1 1 3、1 2 3、もしくは 1 3 3 から選択される V_H ポリペプチド配列またはその変異体を含み、そして、配列番号 1、1 1、2 1、3 1、4 1、5 1、6 1、7 1、8 1、9 1、1 0 1、1 1 1、1 2 1、もしくは 1 3 1 から選択される V_L ポリペプチド配列またはその変異体をさらに含む単離抗 C G R P 抗体であって、前記の V_H ポリペプチドまたは V_L ポリペプチド中のフレームワーク残基（F R 残基）のうちの 1 個以上が別のアミノ酸残基で置換されており、C G R P に特異的に結合する抗 C G R P 抗体がその結果生じる、単離抗 C G R P 抗体を企図する。本発明は、これらの抗体のヒト化形態およびキメラ形態を企図する。キメラ抗体は、I g G 1 定常領域、I g G 2 定常領域、I g G 3 定常領域、I g G 4 定常領域、I g G 5 定常領域、I g G 6 定常領域、I g G 7 定常領域、I g G 8 定常領域、I g G 9 定常領域、I g G 1 0 定常領域、I g G 1 1 定常領域、I g G 1 2 定常領域、I g G 1 3 定常領域、I g G 1 4 定常領域、I g G 1 5 定常領域、I g G 1 6 定常領域、I g G 1 7 定常領域、I g G 1 8 定常領域または I g G 1 9 定常領域に由来する F c を含む得る。

40

【 0 2 3 8 】

本発明の 1 つの実施形態では、前記の抗体または V_H ポリペプチドまたは V_L ポリペプチドは、本明細書において言及されるヒト化処理の開始前に 1 つ以上のウサギ B 細胞集団に起源を発する、またはその 1 つ以上のウサギ B 細胞集団から選択される。

【 0 2 3 9 】

50

本発明の別の実施形態では、抗CGRP抗体およびその断片は、CGRP Rへの結合特異性を有しない。本発明のさらなる実施形態では、抗CGRP抗体およびその断片は、CGRPのCGRP Rとの結合を阻害する。本発明の別の実施形態では、抗CGRP抗体およびその断片は、CGRPのCGRP Rやその他のタンパク質および/もしくはそれらのマルチマーとの結合を阻害する、ならびに/または、それらの生物学的効果を中和する。

【0240】

本明細書の段落[0056]に述べられているように、抗体およびその断片を翻訳後に修飾して、化学リンカーなどのエフェクター部分、例えば蛍光性色素、酵素、基質、生物発光物質、放射性物質および化学発光部分などの検出可能部分、または、例えばストレプト

10

【0241】

抗体またはその断片を化学的に修飾して、そのポリペプチドの上昇した溶解性、安定性および循環時間(インビボ半減期)または低下した免疫原性などのその他の利点を提供することもできる(米国特許第4,179,337号を参照のこと)。誘導体化のための化学部分は、ポリエチレングリコール、エチレングリコール/プロピレングリコール共重合体、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコールなどのような水溶性高分子から選択され得る。抗体およびその断片はその分子内の無作為な位置、またはその分子内の所定の位置に修飾を受けることができ、1つ、2つ、3つ、またはそれより

20

【0242】

前記の高分子はどのような分子量でもよく、分岐型でも非分岐型でもよい。ポリエチレングリコールについては、好ましい分子量は、使いやすさと製造しやすさのため、約1kDaと約100kDa(「約」という用語は、ポリエチレングリコールの調製においては、規定の分子量よりもいくつかの分子は重く、いくつかの分子は軽いということを表している)の間である。所望の治療プロファイル(例えば、所望の持続性放出の期間、生物活性に対してあれば効果、使いやすさ、抗原性の程度またはその欠如、および治療性タンパク質または類似体に対するポリエチレングリコールの他の公知の効果)に応じて他のサイズを使用することもできる。例えば、ポリエチレングリコールは約200、500、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、8500、9000、9500、10,000、10,500、11,000、11,500、12,000、12,500、13,000、13,500、14,000、14,500、15,000、15,500、16,000、16,500、17,000、17,500、18,000、18,500、19,000、19,500、20,000、25,000、30,000、35,000、40,000、50,000、55,000、60,000、65,000、70,000、75,000、80,000、85,000、90,000、95,000、または100,000kDaの平均分子量を有することができる。分岐型ポリエチレングリコールは、例えば、米国特許第5,643,575号、Morpurgo et al., Appl. Biochem. Biotechnol. 56:59-72 (1996)、Vorobjev et al., Nucleosides Nucleotides 18:2745-2750 (1999)、および Caliceti et al., Bioconjug. Chem. 10:638-646 (1999)に記載されており、それらのそれぞれの開示が参照により本明細書に組み込まれる。

30

40

【0243】

当業者が利用することができる多数の結合方法が存在する。例えば、参照により本明細書に組み込まれる(GCSFへのPEGの結合)、欧州特許第0401384号を参照のこと。(トレスクロリドを使用するGMCSFのPEG化を報告する)Malik et al., Exp. Hematol. 20:1028-1035 (1992)も参照のこと。例えば、ポリエチレングリコールは、遊離アミノ基または遊離カルボキシル基などの反応性基によりアミノ酸残基を

50

介して共有結合され得る。反応性基は、活性型ポリエチレングリコール分子が結合され得る基である。遊離アミノ基を有するアミノ酸残基にはリシン残基およびN末端アミノ酸残基が含まれ得る。遊離カルボキシル基を有するアミノ酸残基にはアスパラギン酸残基、グルタミン酸残基およびC末端アミノ酸残基が含まれ得る。スルフヒドリル基もポリエチレングリコール分子の結合のための反応性基として用いることができる。N末端またはリシン基での結合など、アミノ基での結合が治療目的にとって好ましい。

【0244】

上で示唆されているように、ポリエチレングリコールは、多数のアミノ酸残基のうちのいずれかへの結合を介してタンパク質に結合され得る。例えば、ポリエチレングリコールは、リシン残基、ヒスチジン残基、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、またはシステイン残基への共有結合を介してポリペプチドに結合され得る。1つ以上の反応化学を用いてポリエチレングリコールを特定のアミノ酸残基（例えば、リシン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、またはシステイン）に、または複数の種類のアミノ酸残基（例えば、リシン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システインおよびそれらの組合せ）に結合することができる。

【0245】

あるいは、抗体またはその断片は、アルブミン（組換えヒト血清アルブミンまたはその断片もしくは変異体（例えば、1999年3月2日に発行された米国特許第5,876,969号、欧州特許第0413622号、および1998年6月16日に発行された米国特許第5,766,883号を参照のこと。それらは、全体が参照により本明細書に組み込まれる）を含むが、これらに限定されない）またはトランスフェリンもしくはフェリチンなどの他の循環血中タンパク質との融合により上昇したインビボ半減期を有することができる。好ましい実施形態では、本発明のポリペプチドや抗体（それらの断片または変異体を含む）は成熟型のヒト血清アルブミン（すなわち、欧州特許第0322094号の図1および2に示されるヒト血清アルブミンのアミノ酸1~585）と融合される。その特許は、全体が参照により本明細書に組み込まれる。本発明は本発明の融合タンパク質をコードするポリヌクレオチドも包含する。

【0246】

検出可能部分に関して、さらに例となる酵素にはホースラディッシュペルオキシダーゼ、アセチルコリンエステラーゼ、アルカリホスファターゼ、ガラクトシダーゼおよびルシフェラーゼが含まれるが、これらに限定されない。さらに例となる蛍光性物質にはローダミン、フルオレセイン、フルオレセインイソチシアネート、ウンベリフェロン、ジクロロトリアジニルアミン、フィコエリトリンおよびダンシルクロリドが含まれるが、これらに限定されない。さらに例となる化学発光部分にはルミノールが含まれるが、これに限定されない。さらに例となる生物発光物質にはルシフェリンおよびイクオリンが含まれるが、これらに限定されない。さらに例となる放射性物質にはヨウ素125 (^{125}I)、炭素14 (^{14}C)、イオウ35 (^{35}S)、トリチウム (^3H) およびリン32 (^{32}P) が含まれるが、これらに限定されない。

【0247】

機能部分に関して、例となる細胞傷害剤には、メトトレキサート、アミノプテリン、6メルカプトプリン、6チオグアニン、シタラビン、5フルオロウラシル、デカルバジン (decarbazine); メクロレタミン、チオエパ (thioepa)、クロラムブチル、メルファラン、カルムスチン (BSNU)、マイトマイシンC、ロムスチン (CCNU)、1メチルニトロソウレア、シクロトスファミド (cyclophosphamide)、メクロレタミン、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、cisジクロロジアミンプラチナ (II) (DDP)、シスプラチンおよびカルボプラチン (パラプラチン) などのアルキル化剤; ダウノルビシン (以前のダウノマイシン)、ドキソルビシン (アドリアマイシン)、デトルビシン、カルミノマイシン、イダルビシン、エピルビシン、ミトキサントロンおよびピサントレンを含むアントラサイクリン類; ダクチノマイシン (アクチノマイシンD)、ブレオマイシン、

カリケアマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン（AMC）を含む抗生物質；ならびにピンカルカロイド、ピンクリスチンおよびピンブラスチンなどの抗有糸分裂剤が含まれるが、これらに限定されない。他の細胞傷害剤にはパクリタキセル（タキソール）、リシン、緑膿菌外毒素、ゲムシタピン、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、エトポシド、テノポシド（tenoposide）、コルヒチン（colchicin）、ジヒドロキシアントラシンジオン（dihydroxyanthracin dione）、1 デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピューロマイシン、プロカルバジン、ヒドロキシウレア、アスパラギナーゼ、コルチコステロイド、ミトタン（mytotan）（O, P'（DDD））、インターフェロン、およびこれらの細胞傷害剤の混合物が含まれる。

10

【0248】

さらなる細胞傷害剤には、カルボプラチン、シスプラチン、パクリタキセル、ゲムシタピン、カリケアマイシン、ドキソルピシン、5 フルオロウラシル、マイトマイシンC、アクチノマイシンD、シクロホスファミド、ピンクリスチンおよびブレオマイシンなどの化学療法剤が含まれるが、これらに限定されない。リシン、ジフテリア毒素および緑膿菌毒素などの植物および細菌に由来する毒性酵素をヒト化抗体またはキメラ抗体、またはそれらの結合断片と複合体化して細胞種特異的殺滅剤を作製することができる(Youle, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:5483 (1980)、Gilliland, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:4539 (1980)、Krolick, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:5419 (1980))。

20

【0249】

他の細胞傷害剤には、Goldenbergにより米国特許第6,653,104号に記載される細胞傷害性リボヌクレアーゼが含まれる。本発明の実施形態は、粒子または粒子を放射する放射性核種が、複合体形成剤を使用して、または使用せずに安定的に抗体またはその結合断片に結合されている放射性免疫複合体にも関する。そのような放射性核種には、リン 32 (^{32}P)、スカンジウム 47 (^{47}Sc)、銅 67 (^{67}Cu)、ガリウム 67 (^{67}Ga)、イットリウム 88 (^{88}Y)、イットリウム 90 (^{90}Y)、ヨウ素 125 (^{125}I)、ヨウ素 131 (^{131}I)、サマリウム 153 (^{153}Sm)、ルテチウム 177 (^{177}Lu)、レニウム 186 (^{186}Re) またはレニウム 188 (^{188}Re) などの放射体、およびアスタチン 211 (^{211}At)、鉛 212 (^{212}Pb)、ビスマス 212 (^{212}Bi) もしくは 213 (^{213}Bi) またはアクチニウム 225 (^{225}Ac) などの放射体が含まれる。

30

【0250】

抗体またはその結合断片を検出可能部分などに複合体化するための方法、例えば、Hunter et al, Nature 144:945 (1962); David et al, Biochemistry 13:1014 (1974)、Pain et al, J. Immunol. Meth. 40:219 (1981)、および Nygren, J., Histochem. and Cytochem. 30:407 (1982) によって記載される方法などは当技術分野において公知である。

【0251】

40

本明細書に記載される実施形態は、本明細書に記載される抗体、抗体断片、ディアボディ、SMIP、キャメルボディ、ナノボディ、IgNAR、ポリペプチド、可変領域およびCDRと実質的に相同である変異体および同等物をさらに包含する。これらは、例えば、保存的置換型変異（すなわち、1つ以上のアミノ酸の類似のアミノ酸による置換）を含むことができる。例えば、保存的置換は同一の一般的分類内での1つのアミノ酸の別のアミノ酸での置換、例えば、1つの酸性アミノ酸の別の酸性アミノ酸での置換、1つの塩基性アミノ酸の別の塩基性アミノ酸での置換、または1つの中性アミノ酸の別の中性アミノ酸による置換を指す。保存的アミノ酸置換によって企図されることは、当技術分野において周知である。

【0252】

50

別の実施形態では、本発明は、本明細書に記載される抗体断片、可変領域およびCDRのポリペプチド配列のうちのいずれか1つ以上に対して少なくとも90%以上の配列相同性を有するポリペプチド配列を企図する。より好ましくは、本発明は、本明細書に記載される抗体断片、可変領域およびCDRのポリペプチド配列のうちのいずれか1つ以上に対して少なくとも95%以上の配列相同性を有するポリペプチド配列を企図し、さらにより好ましくは少なくとも98%以上の配列相同性を企図し、およびさらに一層好ましくは少なくとも99%以上の配列相同性を企図する。核酸配列間およびアミノ酸配列間で相同性を決定するための方法は、当業者に良く知られている。

【0253】

別の実施形態では、本発明は、本明細書に記載される抗体断片、可変領域およびCDRの上に列挙したポリペプチド相同物であって、抗CGRP活性をさらに有する相同物をさらに企図する。抗CGRP活性の非限定的な例は本明細書、例えば、下の段落[0256]~[0277]に示されている。

【0254】

別の実施形態では、本発明は、前述の配列のいずれかに結合する抗イディオタイプ抗体の作製と使用をさらに企図する。例となる実施形態では、そのような抗イディオタイプ抗体は、抗CGRP抗体を受容したことがある対象に投与されてその抗CGRP抗体の効果を調節する、低下させる、または中和化することができ得る。そのような抗イディオタイプ抗体は抗CGRP抗体の存在を特徴とする自己免疫疾患の治療にも有用であり得る。そのような抗イディオタイプ抗体のさらなる使用例は本発明の抗CGRP抗体の検出のための使用であり、例えば、対象の血液または他の体液の中に存在する抗CGRP抗体のレベルをモニターするための使用である。

【0255】

本発明は、本明細書に記載されるポリペプチド配列のいずれかを含む、または本明細書に記載されるポリヌクレオチド配列のうちのいずれかであって、本明細書に記載される他のポリヌクレオチド配列のうちのいずれかと置き換えられているものを含む抗CGRP抗体も企図する。例えば、限定されないが、本発明は、本明細書に記載される可変軽鎖配列および可変重鎖配列のいずれかよりなる組合せを含む抗体を企図し、ならびに本明細書に記載されるCDR配列のいずれかによる本明細書に記載される他のCDR配列のうちのいずれかの置換により生じる抗体をさらに企図する。

【0256】

他の例となる本発明の実施形態

別の実施形態では、本発明は、完全ヒトCGRPポリペプチドもしくはその断片上にある、Ab1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7、Ab8、Ab9、Ab10、Ab11、Ab12、Ab13もしくはAb14から選択される抗ヒトCGRP抗体のエピトープと同一の重複性の直鎖状エピトープもしくは立体構造エピトープに特異的に結合する、および/またはその同一の重複性の直鎖状エピトープもしくは立体構造エピトープへの結合について競合する1つ以上の抗ヒトCGRP抗体またはそれらの抗体断片を企図する。好ましい実施形態では、その抗ヒトCGRP抗体またはその断片は、完全ヒトCGRPポリペプチドもしくはその断片上にある、Ab3、Ab6、Ab13もしくはAb14のエピトープと同一の重複性の直鎖状エピトープもしくは立体構造エピトープに特異的に結合する、および/またはその同一の重複性の直鎖状エピトープもしくは立体構造エピトープへの結合について競合する。

【0257】

本発明の好ましい実施形態は、CGRPへの結合特異性を有し、CGRPのCGRP受容体への結合により仲介される生物学的活性を阻害するキメラ抗体またはヒト化抗体およびそれらの断片(Fab断片を含む)を対象とする。本発明の特に好ましい実施形態では、そのキメラ抗CGRP抗体またはヒト化抗CGRP抗体はAb3、Ab6、Ab13、またはAb14から選択される。

【0258】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに仲介される生物学的活性に影響を及ぼし、その結果CGRPのCGRP Rへの結合により仲介される生物学的活性を避けることによってCGRPと関連がある疾患または障害を軽減、治療、または予防する方法が企図される。1つの実施形態では、CGRPと関連がある疾患または障害は、偏頭痛またはCGRPが疼痛、頭痛、疼痛、癌、過活動性膀胱、もしくは体重減少を誘発する別の障害である。CGRPと関連がある疾患および障害のさらなる非限定的なリストが本明細書において提供される。

【0259】

本発明の別の好ましい実施形態は、患者における偏頭痛および頭痛の治療のためにFabポリペプチド配列を使用することを企図する。Fabポリペプチド配列を使用して治療され得る非限定的な種類の偏頭痛および頭痛は本開示の別の所に提供される。

10

【0260】

本発明の別の実施形態では、抗ヒトCGRP抗体は、完全CGRPポリペプチドまたはその断片上にある、Ab3、Ab6、Ab13またはAb14が特異的に結合するエピトープと同一の重複性の直鎖状エピトープまたは立体構造エピトープであって、天然ヒトCGRPポリペプチドの全長にわたる重複性直鎖状ペプチド断片を使用するエピトープマッピングによって確定されるエピトープに特異的に結合する抗体である。

【0261】

本発明は、Ab1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7、Ab8、Ab9、Ab10、Ab11、Ab12、Ab13もしくはAb14から選択される抗CGRP抗体を含むが、これに限定されない、本明細書において開示される抗体もしくは抗体断片のエピトープと同一のCGRPエピトープに結合する、および/またはCGRPへの結合について抗CGRP抗体と競合する抗CGRP抗体も対象とする。

20

【0262】

別の実施形態では、本発明は、3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123、もしくは133から選択されるV_Hポリペプチド配列もしくはその変異体に含まれるCDRのうちの1つ以上、および/または1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、もしくは131から選択されるV_Lポリペプチド配列もしくはその変異体に含まれるCDRのうちの1つ以上を含む単離抗CGRP抗体または抗体断片も対象とする。

30

【0263】

本発明の1つの実施形態では、前の2つの段落で論じられている抗ヒトCGRP抗体は、Ab1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7、Ab8、Ab9、Ab10、Ab11、Ab12、Ab13またはAb14から選択される抗ヒトCGRP抗体に含まれるものと同一である、少なくとも2つの相補性決定領域(CDR)をそれぞれの軽鎖可変領域と重鎖可変領域に含む。

【0264】

好ましい実施形態では、上で論じられている抗ヒトCGRP抗体は、Ab3またはAb6に含まれるもとの同一である、少なくとも2つの相補性決定領域(CDR)をそれぞれの軽鎖可変領域と重鎖可変領域に含む。別の実施形態では、上で論じられている抗ヒトCGRP抗体のCDRの全てが、Ab1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7、Ab8、Ab9、Ab10、Ab11、Ab12、Ab13またはAb14から選択される抗ヒトCGRP抗体に含まれるCDRと同一である。本発明の好ましい実施形態では、上で論じられている抗ヒトCGRP抗体のCDRの全てがAb3またはAb6から選択される抗ヒトCGRP抗体に含まれるCDRと同一である。

40

【0265】

本発明は、上で論じられている1つ以上の抗ヒトCGRP抗体は、非グリコシル化型であり、エフェクター機能、半減期、タンパク質分解やグリコシル化を変化させるために修飾されているFc領域を含み、ヒト抗体、ヒト化抗体、単鎖抗体またはキメラ抗体であり、そして、ウサギ(親)抗ヒトCGRP抗体に由来するヒト化抗体であることをさらに企

50

図している。

【0266】

本発明は、1つ以上の抗ヒトCGRP抗体であって、前記抗体の軽鎖可変領域および重鎖可変領域のそれぞれの中にあるフレームワーク領域(FR)が非修飾型のヒトFRであるか、または軽鎖可変領域もしくは重鎖可変領域内の1つ以上のヒトFR残基が親ウサギ抗体の対応するFR残基で置換されることにより修飾されているヒトFRであり、そして、前記のヒトFRが、ヒト生殖系列抗体配列のライブラリーに含まれる他のヒト生殖系列抗体配列と比べて、対応するウサギ重鎖可変領域または軽鎖可変領域に対する高レベルの相同性に基づいてそのライブラリーから選択されたヒト可変重鎖抗体配列および可変軽鎖抗体配列より得られたものである、抗ヒトCGRP抗体をさらに企図する。

10

【0267】

本発明の1つの実施形態では、抗ヒトCGRP抗体または断片は、CGRP発現ヒト細胞、および/または循環可溶性CGRP分子にインビボで特異的に結合する。そのCGRPには、CGRPを発現する細胞と関連がある疾患を有する患者のヒト細胞上に発現するCGRPまたはそのヒト細胞が発現するCGRPが含まれる。

【0268】

別の実施形態では、前記の疾患は、偏頭痛(前兆を有する、または有しない)、体重減少、癌または腫瘍、癌または腫瘍の増殖に伴う血管形成、癌または腫瘍の生存に伴う血管形成、片麻痺性偏頭痛、群発性頭痛、偏頭痛性神経痛、慢性頭痛、緊張性頭痛、一般的頭痛、のぼせ、慢性発作性片側頭痛、頭頸部にある根底的構造的問題に起因する二次性頭痛、頭蓋神経痛、副鼻腔性頭痛(例えば、副鼻腔炎に伴うものなど)、アレルギー誘導性の頭痛または偏頭痛、疼痛、炎症性疼痛、術後創痛、複合性局所疼痛症候群、癌性疼痛、原発性または転移性骨癌性疼痛、骨折痛、慢性疼痛、骨粗鬆症性骨折疼痛、火傷により生じる疼痛、骨粗鬆症、通風性関節痛、腹痛、鎌状赤血球発症に伴う疼痛、および他の侵害受容性疼痛、ならびに肝細胞癌、乳癌、肝硬変、神経原性疼痛、神経障害性疼痛、侵害受容性疼痛、三叉神経痛、ヘルペス後神経痛、幻肢痛、線維筋痛、生理痛、卵巣痛、反射性交感神経性ジストロフィー、神経原性疼痛、骨関節炎痛またはリウマチ性関節炎痛、腰痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛、または胃食道逆流症、消化不良、過敏性腸症候群、過敏性大腸、痙攣性結腸、粘液性大腸炎、炎症性腸疾患、クローン病、回腸炎、潰瘍性大腸炎、腎疝痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、膵臓炎、腎疝痛、月経困難、間質性膀胱炎(IC)を含む膀胱炎、腸閉塞の手術、憩室炎、腹膜炎、心膜炎、肝炎、虫垂炎、大腸炎、胆嚢炎、子宮内膜症、慢性膵臓炎や急性膵臓炎に伴う疼痛もしくは内臓痛、心筋梗塞、腎臓痛、胸膜痛、前立腺炎、骨盤痛、器官への外傷、慢性侵害受容性疼痛、慢性神経障害性疼痛、慢性炎症性疼痛、線維筋痛、突出痛および持続痛から選択される。

20

30

【0269】

本発明の別の実施形態では、前記の疾患は、好ましくは、腺組織における腺癌、器官の胚性組織における芽細胞腫、上皮組織における癌腫、血液細胞を形成する組織における白血病、リンパ組織におけるリンパ腫、骨髄における骨髄腫、結合組織または支持組織における肉腫、副腎癌、AIDS関連リンパ腫、貧血、膀胱癌、骨癌、脳癌、乳癌、カルチノイド腫瘍、子宮頸部癌、化学療法、結腸癌、血球減少症、子宮内膜癌、食道癌、胃癌、頭部癌、頸部癌、肝胆道癌、腎臓癌、白血病、肝臓癌、肺癌、リンパ腫、ホジキン病、リンパ腫、非ホジキン、神経系腫瘍、口腔癌、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、精巣癌、甲状腺癌、尿道癌、骨癌、結合組織の肉腫癌、骨組織の癌、血液形成細胞の癌、骨髄癌、多発性骨髄腫、白血病、原発性および続発性骨癌、骨に転移する腫瘍、神経および中空性臓器に浸潤する腫瘍、神経構造近位での腫瘍のうちの1つ以上から選択される悪性腫瘍または癌から生じる癌性疼痛である。さらに好ましくは、癌性疼痛は内臓痛、好ましくは膵臓癌や腹部への転移から生じる内臓痛を含む。さらに好ましくは、癌性疼痛は体性痛、好ましくは骨癌、骨内の転移、術後痛、結合組織の肉腫癌、骨組織の癌、骨髄の血液形成細胞の癌、多発性骨髄腫、白血病、原発性または続発性骨癌のうちの1つ以

40

50

上に起因する体性痛を含む。

【0270】

本発明は、検出可能標識または治療薬に直接的または間接的に結合されている抗ヒトCGRP抗体または断片をさらに企図する。

【0271】

本発明は、上に示されている抗ヒトCGRP抗体または抗体断片を発現することになる、酵母好適性コドンまたはヒト好適性コドンを含む、あるいはそれらからなるものを包含する1つ以上の核酸配列も企図する。本発明は、前記核酸配列を含むベクター（プラスミドベクターまたは組換えウイルスベクターを含む）も企図する。本発明は、上に示されている抗体のうちの少なくとも1つを発現する、哺乳類細胞、酵母細胞、細菌細胞および昆虫細胞を包含する宿主細胞または組換え宿主細胞も企図する。好ましい実施形態では、その宿主細胞は酵母細胞である。さらに好ましい実施形態では、その酵母細胞は二倍体酵母細胞である。より好ましい実施形態では、その酵母細胞はピキア酵母である。

【0272】

本発明は、CGRP発現細胞に関連する疾患または健康状態を有する患者に本明細書に記載される少なくとも1つの抗ヒトCGRP抗体または断片の治療的有効量を投与することを含む治療方法も企図する。本発明は、その治療方法が本明細書において開示される2つ以上の抗CGRP抗体またはその断片の投与を含み得ることも企図する。1つよりも多い抗体が患者に投与される場合、その複数の抗体を同時もしくは共に投与してよく、または、それらをずらして投与してよい。治療され得る疾患は、上および本明細書中の別の所に示されている非限定的なリストに提示される。好ましい実施形態では、その疾患は、偏頭痛、頭痛、体重減少、疼痛、癌性疼痛または神経障害性疼痛から選択される。別の実施形態では、前記の治療は、化学療法、放射線治療、サイトカイン投与または遺伝子治療から選択される別の治療薬の投与または別の治療計画の執行をさらに包含する。

【0273】

本発明の非限定的な実施形態では、別の治療薬または治療計画はタキソール（パクリタキセル）もしくはその誘導体、カルボプラチンもしくはシスプラチンなどのプラチナ化合物、ドキソルピシンなどのアントロサイクリン（anthracycline）類、シクロホスファミドなどのアルキル化剤、5-フルオロウラシルなどの抗代謝剤、またはエトポシドを包含する。

【0274】

本発明は、CGRPを発現する細胞の存在を検出するインビボ撮影の方法であって、少なくとも1つの抗ヒトCGRP抗体の診断的有効量を投与することを含む方法をさらに企図する。1つの実施形態では、前記の投与は、CGRP発現疾患部位での抗体の検出を容易にする放射性核種またはフルオロフォア（fluorophore）の投与をさらに包含する。さらなる実施形態では、前記のインビボ撮影方法の結果は適切な治療計画の設計を容易にするために使用され、その治療計画には、放射線治療、化学療法またはそれらの組合せを含む治療計画が包含される。

【0275】

本発明の抗CGRP抗体およびCGRPに対する結合特異性を有するその断片の抗CGRP活性を、それらのCGRPへの結合力または親和性によって記載することもできる。本発明の1つの実施形態では、本発明の抗CGRP抗体およびCGRPに対する結合特異性を有するその断片は 5×10^{-7} M、 10^{-7} M、 5×10^{-8} M、 10^{-8} M、 5×10^{-9} M、 10^{-9} M、 5×10^{-10} M、 10^{-10} M、 5×10^{-11} M、 10^{-11} M、 5×10^{-12} M、 10^{-12} M、 5×10^{-13} M、または 10^{-13} M以下の解離定数（ K_D ）でCGRPに結合する。好ましくは、抗CGRP抗体およびその断片は 10^{-11} M、 5×10^{-12} M、または 10^{-12} M以下の解離定数でCGRPに結合する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗CGRP抗体およびCGRPに対する結合特異性を有するその断片は直鎖状CGRPエピトープまたは立体構造CGRPエピトープに結合する。

【0276】

本発明の別の実施形態では、本発明の抗CGRP抗体およびCGRPに対する結合特異性を有するその断片の抗CGRP活性は、 10^{-4} S^{-1} 、 $5 \times 10^{-5} \text{ S}^{-1}$ 、 10^{-5} S^{-1} 、 $5 \times 10^{-6} \text{ S}^{-1}$ 、 10^{-6} S^{-1} 、 $5 \times 10^{-7} \text{ S}^{-1}$ 、または 10^{-7} S^{-1} 以下の解離速度でCGRPに結合する。

【0277】

本発明のさらなる実施形態では、本発明の抗CGRP抗体およびCGRPに対する結合特異性を有するその断片の抗CGRP活性は、CGRPと関連がある疾患および障害の症状を予防、改善、または軽減することにより、あるいはその疾患および障害を治療することにより抗CGRP活性を示す。CGRPと関連がある疾患および障害の非限定的な例は本明細書に記載される。

10

【0278】

抗CGRP抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド

抗体Ab1

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに対象とする。本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号1の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCCTGCAGCTGT
TGGGAAGCACAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAG
TGTTTATGATAACAACCTAGCCTGGTATCAGCAGAA
CCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA
CTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCCAGTGG
ATCTGGGACACAGTTTCACTCTCAACCATCAGCGACCTGGAG
TGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATG
ATTGTAGTAGTGTTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGAC
CGAGGTGGTGGTCAAACGT (配列番号141)。

20

【0279】

本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号2の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCCTGCAGCTGT
TGGGAAGCACAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAG
TGTTTATGATAACAACCTAGCCTGGTATCAGCAGAA
CCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA
CTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCCAGTGG
ATCTGGGACACAGTTTCACTCTCAACCATCAGCGACCTGGAG
TGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATG
ATTGTAGTAGTGTTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGAC
CGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC
TTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA
CTGCCCTCTGTTGTGTGCCCTGCTGAATAACTTCTATCCAG
AGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCA
TCGGGTAACTCCCAAGGAGAGTGTCAACAGAGCAGGACAGCA
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA
GTCAACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCGTCACAAAGAGCT
TCAACAGGGGAGAGTGTTAG (配列番号142)。

40

【0280】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号3の可変重鎖ポリ

50

ペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

C A G T C G C T G G A G G A G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C C T G
G G A C A C C C C T G A C A C T C A C C T G C A C A G T C T C T G G A C T C G A
C C T C A G T A G C T A C T A C A T G C A A T G G G T C C G C C A G G C T C C A
G G G A A G G G G C T G G A A T G G A T C G G A G T C A T T G G T A T T A A T G
A T A A C A C A T A C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T C A C
C A T C T C C A G A G C C T C G T C G A C C A C G G T G G A T C T G A A A A T G
A C C A G T C T G A C A A C C G A G G A C A C G G C C A C C T A T T T C T G T G
C C A G A G G G G A C A T C T G G G G C C C A G G C A C C C T C G T C A C C G T
C T C G A G C (配列番号 1 4 3) 。

10

【 0 2 8 1 】

本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 4 の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

C A G T C G C T G G A G G A G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C C T G
G G A C A C C C C T G A C A C T C A C C T G C A C A G T C T C T G G A C T C G A
C C T C A G T A G C T A C T A C A T G C A A T G G G T C C G C C A G G C T C C A
G G G A A G G G G C T G G A A T G G A T C G G A G T C A T T G G T A T T A A T G
A T A A C A C A T A C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T C A C
C A T C T C C A G A G C C T C G T C G A C C A C G G T G G A T C T G A A A A T G
A C C A G T C T G A C A A C C G A G G A C A C G G C C A C C T A T T T C T G T G
C C A G A G G G G A C A T C T G G G G C C C A G G C A C C C T C G T C A C C G T
C T C G A G C G C C T C C A C C A A G G G C C C A T C G G T C T T C C C C C T G
G C A C C C T C C T C C A A G A G C A C C T C T G G G G G C A C A G C G G C C C
T G G G C T G C C T G G T C A A G G A C T A C T T C C C C G A A C C G G T G A C
G G T G T C G T G G A A C T C A G G C G C C C T G A C C A G C G G C G T G C A C
A C C T T C C C G G C T G T C C T A C A G T C C T C A G G A C T C T A C T C C C
T C A G C A G C G T G G T G A C C G T G C C C T C C A G C A G C T T G G G C A C
C C A G A C C T A C A T C T G C A A C G T G A A T C A C A A G C C C A G C A A C
A C C A A G G T G G A C A A G A G A G T T G A G C C C A A A T C T T G T G A C A
A A A C T C A C A C A T G C C C A C C G T G C C C A G C A C C T G A A C T C C T
G G G G G G A C C G T C A G T C T T C C T C T T C C C C C C A A A A C C C A A G
G A C A C C C T C A T G A T C T C C C G G A C C C C T G A G G T C A C A T G C G
T G G T G G T G G A C G T G A G C C A C G A A G A C C C T G A G G T C A A G T T
C A A C T G G T A C G T G G A C G G C G T G G A G G T G C A T A A T G C C A A G
A C A A A G C C G C G G G A G G A G C A G T A C G C C A G C A C G T A C C G T G
T G G T C A G C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A G G A C T G G C T G A A
T G G C A A G G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C A A C A A A G C C C T C
C C A G C C C C C A T C G A G A A A A C C A T C T C C A A A G C C C A A A G G G C
A G C C C C G A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T G C C C C C A T C C C G
G G A G G A G A T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C C T G A C C T G C C T G
G T C A A A G G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G A G T G G G
A G A G C A A T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C C A C G C C
T C C C G T G C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C T T C C T C T A C A G C
A A G C T C A C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C A G C A G G G G A A C G
T C T T C T C A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C T C T G C A C A A C C A
C T A C A C G C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T C C G G G T A A A T G A
(配列番号 1 4 4) 。

20

30

40

【 0 2 8 2 】

50

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号1の軽鎖可変配列または配列番号2の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号145、配列番号146、および配列番号147のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0283】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号3の重鎖可変配列または配列番号4の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号148、配列番号149、および配列番号150のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0284】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片をコードするポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、抗体断片をコードする次のポリヌクレオチドのうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号1の軽鎖可変配列をコードする配列番号141のポリヌクレオチド；配列番号2の軽鎖配列をコードする配列番号142のポリヌクレオチド；配列番号3の重鎖可変配列をコードする配列番号143のポリヌクレオチド；配列番号4の重鎖配列をコードする配列番号144のポリヌクレオチド；配列番号1の軽鎖可変配列または配列番号2の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号145、配列番号146、および配列番号147)；および配列番号3の重鎖可変配列または配列番号4の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号148、配列番号149、および配列番号150)。

【0285】

本発明の好ましい実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、CGRPへの結合特異性を有するFab断片(抗原結合断片)をコードするポリヌクレオチドを含む、あるいはそのポリヌクレオチドからなる。抗体Ab1に関して、全長のAb1抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号2の軽鎖配列をコードする配列番号142のポリヌクレオチドおよび配列番号4の重鎖配列をコードする配列番号144のポリヌクレオチドを含む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

【0286】

本発明の別の実施形態は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、または真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、ピキア酵母などの酵母細胞における発現のために発現ベクターに組み込まれているこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)が含まれるが、これに限定されない。本明細書において(下に)記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、適切な宿主での全長ポリヌクレオチドの発現の後に、Ab1の酵素(例えば、パパイン)消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab1などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞(例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母)および他の酵母株におけるAb1ポリヌクレオチドの発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)が含まれるが、これに限定されない。

【0287】

抗体Ab2

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに対象とする。本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号11の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT
TAGGAGACAGAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAG
TGTTTATGATAACAACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA
CCAGGGAAAGTTCTTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA
CTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTTCAGTGGCAGTGG
ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAG
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGTTATG
ATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAAC
CAAGGTGGAAATCAAAACGT (配列番号 151)。

【0288】

10

本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号12の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT
TAGGAGACAGAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAG
TGTTTATGATAACAACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA
CCAGGGAAAGTTCTTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA
CTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTTCAGTGGCAGTGG
ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAG
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGTTATG
ATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAAC
CAAGGTGGAAATCAAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC
TTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA
CTGCCCTCTGTTGTGTGCTGTGAATAACTTCTATCCCAG
AGAGGCCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCA
TCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAGTCTACGCCCTGCGAA
GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCGTCACAAAGAGCT
TCAACAGGGGAGAGTGTAG (配列番号 152)。

20

30

【0289】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号13の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGC
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGACT
CGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAAGGCT
CCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCTGGAGTCAATTGGTATCA
ATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGGCGAAAGGCCGATT
CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGTATCTT
CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATT
TCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCCTCGT
CACCGTCTCGAGC (配列番号 153)。

40

【0290】

本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号14の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGC
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGACT
CGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAAGGCT

50

CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTGGAGTCAATTGGTATCA
ATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATT
CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGTATCTT
CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATT
TCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAAGGGACCCCTCGT
CACCGTCTTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCCATCGGTCTTC
CCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCGACAG
CGGCCCTGGGCTGCGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAAACC
GGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGC
GTGCACACCTTCCC GGCTGTCTCTACAGTCTCTCAGGACTCT 10
ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGGCCCTCCAGCAGCTT
GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCC
AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCCAAATCTT
GTGACAAAACCTCACACATGCCCAACCGTGGCCAGCACCTGA
ACTCCTGGGGGGGACCGTCTAGTCTTCTCTTCCCCC AAAA
CCCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCA
CATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGT
CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT
GCCAAGACAAAGCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGT
ACCGTGTGGTTCAGCGTCTCTCACCGTCTGCAACCAGGACTG 20
GCTGAATGGCAAGGAGTACAAAGTGC AAAGTCTCCAACAAA
GCCCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCA
AAGGGCAGCCCCCGAGAAACCAAGGTGTACACCCCTGCCCCC
ATCCC GGGAAGGAGATGACCAAGAAACCAAGGTACGCCCTGACC
TGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCTCCAGCGACATCGCCGTGG
AGTGGGAGAGCAATGGGCAAGCCGGAGAACAACTACAAGAC
CAGGCCCTCCCGTGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTCTC
TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA
CAACCACTACACGCAGAAAGAGCCTCTCCCCCTGTCTCCGGGT 30
AAATGA (配列番号154)。

【0291】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号11の軽鎖可変配列または配列番号12の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号155、配列番号156、および配列番号157のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0292】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号13の重鎖可変配列または配列番号14の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号158、配列番号159、および配列番号160のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0293】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片をコードするポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、抗体断片をコードする次のポリヌクレオチドのうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多

10

20

30

40

50

くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号 1 1 の軽鎖可変配列をコードする配列番号 1 5 1 のポリヌクレオチド；配列番号 1 2 の軽鎖配列をコードする配列番号 1 5 2 のポリヌクレオチド；配列番号 1 3 の重鎖可変配列をコードする配列番号 1 5 3 のポリヌクレオチド；配列番号 1 4 の重鎖配列をコードする配列番号 1 5 4 のポリヌクレオチド；配列番号 1 1 の軽鎖可変配列または配列番号 1 2 の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号 1 5 5、配列番号 1 5 6、および配列番号 1 5 7）；および配列番号 1 3 の重鎖可変配列または配列番号 1 4 の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号 1 5 8、配列番号 1 5 9、および配列番号 1 6 0）。

【0294】

本発明の好ましい実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、CGRP への結合特異性を有する Fab 断片（抗原結合断片）をコードするポリヌクレオチドを含む、あるいはそのポリヌクレオチドからなる。抗体 Ab2 に関して、全長の Ab2 抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 1 2 の軽鎖配列をコードする配列番号 1 5 2 のポリヌクレオチドおよび配列番号 1 4 の重鎖配列をコードする配列番号 1 5 4 のポリヌクレオチドを含む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

【0295】

本発明の別の実施形態は、CHO 細胞、NSO 細胞もしくは HEK293 細胞などの哺乳類細胞、または真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、ピキア酵母などの酵母細胞における発現のために発現ベクターに組み込まれているこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。本明細書において（下に）記載される本発明の 1 つの実施形態では、Fab 断片は、適切な宿主での全長ポリヌクレオチドの発現の後に、Ab2 の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab2 などの抗 CGRP 抗体またはその Fab 断片は、CHO 細胞、NSO 細胞もしくは HEK293 細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株における Ab2 ポリヌクレオチドの発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

【0296】

抗体 Ab3

本発明は、CGRP に対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに対象とする。本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 2 1 の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT
TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAG
TGTTTATGATAACAACCTAGCCTGGTATCAGCAGAA
CCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA
CTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGG
ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAG
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGTTATG
ATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAAC
CAAGGTGGAAATCAAAACGT（配列番号 1 6 1）。

【0297】

本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 2 2 の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT
TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAG
TGTTTATGATAACAACCTAGCCTGGTATCAGCAGAA

CCAGGGAAAGTTCTTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA
CTCTGGCATCTGGGGTCCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGG
ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAG
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGTTATG
ATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAAC
CAAGGTGGAAATCAAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC
TTCATCTTCCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA
CTGCCCTCTGTTGTGTGCCCTGCTGAATAACTTCTATCCCCAG
AGAGGCCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCA
TCGGGTAACTCCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA
GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCGTCACAAAGAGCT
TCAACAGGGGAGAGTGTTAG (配列番号162)。

10

【0298】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号23の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGC
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGTCAGTCTCTGGACT
CGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTTCAGGCT
CCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGGAGTCAATTGGTATCA
ATGATAAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCCGATT
CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGTATCTTT
CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATT
TCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAAGGGACCCCTCGT
CACCGTCTTCGAGC (配列番号163)。

20

【0299】

本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号24の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGC
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGTCAGTCTCTGGACT
CGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTTCAGGCT
CCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGGAGTCAATTGGTATCA
ATGATAAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCCGATT
CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGTATCTTT
CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATT
TCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAAGGGACCCCTCGT
CACCGTCTTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC
CCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGGCACAG
CGGCCCTGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC
GGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGC
GTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTACAGTCTTCAGGACTCT
ACTCCCCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTT
GGGCACCCAGACCCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCC
AGCAACACCAAGGTGGACGCGAGAGTTGAGCCCAAATCTTT
GTGACAAAACCTCACACATGCCCAACCGTGCCCAAGCACCTGA
ACTCCTGGGGGGACCGTCAAGTCTTCTCTTCCCCCCCAA
CCCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCCGGACCCCTGAGGTCA

30

40

50

C A T G C G T G G T G G T G G A C G T G A G C C A C G A A G A C C C T G A G G T
C A A G T T C A A C T G G T A C G T G G A C G G C G T G G A G G T G C A T A A T
G C C A A G A C A A A G C C G C G G G A G G A G C A G T A C G C C A G C A C G T
A C C G T G T G G T C A G C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A G G A C T G
G C T G A A T G G C A A G G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C A A C A A A
G C C C T C C C A G C C C C C A T C G A G A A A A C C A T C T C C A A A G C C A
A A G G G C A G C C C C G A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T G C C C C C
A T C C C G G G A G G A G A T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C C T G A C C
T G C C T G G T C A A A G G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G
A G T G G G A G A G C A A T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C
C A C G C C T C C C G T G C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C T T C C T C
T A C A G C A A G C T C A C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C A G C A G G
G G A A C G T C T T C T C A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C T C T G C A
C A A C C A C T A C A C G C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T C C G G G T
A A A T G A (配列番号 1 6 4) 。

【 0 3 0 0 】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 2 1 の軽鎖可変配列または配列番号 2 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R、すなわち超可変領域) をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 1 6 5、配列番号 1 6 6、および配列番号 1 6 7 のポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【 0 3 0 1 】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 2 3 の重鎖可変配列または配列番号 2 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (C D R、すなわち超可変領域) をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 1 6 8、配列番号 1 6 9、および配列番号 1 7 0 のポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【 0 3 0 2 】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片をコードするポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、抗体断片をコードする次のポリヌクレオチドのうちの 1 つ、2 つ、3 つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号 2 1 の軽鎖可変配列をコードする配列番号 1 6 1 のポリヌクレオチド；配列番号 2 2 の軽鎖配列をコードする配列番号 1 6 2 のポリヌクレオチド；配列番号 2 3 の重鎖可変配列をコードする配列番号 1 6 3 のポリヌクレオチド；配列番号 2 4 の重鎖配列をコードする配列番号 1 6 4 のポリヌクレオチド；配列番号 2 1 の軽鎖可変配列または配列番号 2 2 の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド (配列番号 1 6 5、配列番号 1 6 6、および配列番号 1 6 7) ；および配列番号 2 3 の重鎖可変配列または配列番号 2 4 の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド (配列番号 1 6 8、配列番号 1 6 9、および配列番号 1 7 0) 。

【 0 3 0 3 】

本発明の好ましい実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、CGRPへの結合特異性を有する F a b 断片 (抗原結合断片) をコードするポリヌクレオチドを含む、あるいはそのポリヌクレオチドからなる。抗体 A b 3 に関して、全長の A b 3 抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 2 2 の軽鎖配列をコードする配列番号 1 6 2 のポリヌクレオチドおよび配列番号 2 4 の重鎖配列をコードする配列番号 1 6 4 のポリヌクレオチドを含む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

【 0 3 0 4 】

本発明の別の実施形態は、ＣＨＯ細胞、ＮＳＯ細胞もしくはＨＥＫ２９３細胞などの哺乳類細胞、または真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、ピキア酵母などの酵母細胞における発現のために発現ベクターに組み込まれているこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。本明細書において（下に）記載される本発明の１つの実施形態では、Ｆａｂ断片は、適切な宿主での全長ポリヌクレオチドの発現の後に、Ａｂ３の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ａｂ３などの抗ＣＧＲＰ抗体またはそのＦａｂ断片は、ＣＨＯ細胞、ＮＳＯ細胞もしくはＨＥＫ２９３細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株におけるＡｂ３ポリヌクレオチドの発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

10

【０３０５】

抗体Ａｂ４

本発明は、ＣＧＲＰに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに対象とする。本発明の１つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号３１の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

ＣＡＡＧＴＧＣＴＧＡＣＣＣＡＧＡＣＴＣＣＡＴＣＣＣＣＣＧＴＧＴＣＴＧＣＡＧＣＴＧ
ＴＧＧＧＡＡＧＣＡＣＡＧＴＣＡＣＣＡＴＣＡＡＴＴＧＣＣＡＧＧＣＣＡＧＴＣＡＧＡＧ
ＴＧＴＴＴＡＴＣＡＴＡＡＣＡＣＣＴＡＣＣＴＧＧＣＣＴＧＧＴＡＴＣＡＧＣＡＧＡＡＡ
ＣＣＡＧＧＧＣＡＧＣＣＴＣＣＣＡＡＡＣＡＡＣＴＧＡＴＣＴＡＴＧＡＴＧＣＡＴＣＣＡ
ＣＴＣＴＧＧＣＧＴＣＴＧＧＧＧＴＣＣＣＡＴＣＧＣＧＧＴＴＣＡＧＣＧＧＣＡＧＴＧＧ
ＡＴＣＴＧＧＧＡＣＡＣＡＧＴＴＣＡＣＴＣＴＣＡＣＣＡＴＣＡＧＣＧＧＣＧＴＧＣＡＧ
ＴＧＴＡＡＣＧＡＴＧＣＴＧＣＣＧＣＴＴＡＣＴＡＣＴＧＴＣＴＧＧＧＣＡＧＴＴＡＴＧ
ＡＴＴＧＴＡＣＴＡＡＴＧＧＴＧＡＴＴＧＴＴＴＴＧＴＴＴＴＣＧＧＣＧＧＡＧＧＧＡＣ
ＣＧＡＧＧＴＧＧＴＧＧＴＣＡＡＡＣＧＴ（配列番号１７１）。

20

【０３０６】

本発明の１つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号３２の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

ＣＡＡＧＴＧＣＴＧＡＣＣＣＡＧＡＣＴＣＣＡＴＣＣＣＣＣＧＴＧＴＣＴＧＣＡＧＣＴＧ
ＴＧＧＧＡＡＧＣＡＣＡＧＴＣＡＣＣＡＴＣＡＡＴＴＧＣＣＡＧＧＣＣＡＧＴＣＡＧＡＧ
ＴＧＴＴＴＡＴＣＡＴＡＡＣＡＣＣＴＡＣＣＴＧＧＣＣＴＧＧＴＡＴＣＡＧＣＡＧＡＡＡ
ＣＣＡＧＧＧＣＡＧＣＣＴＣＣＣＡＡＡＣＡＡＣＴＧＡＴＣＴＡＴＧＡＴＧＣＡＴＣＣＡ
ＣＴＣＴＧＧＣＧＴＣＴＧＧＧＧＴＣＣＣＡＴＣＧＣＧＧＴＴＣＡＧＣＧＧＣＡＧＴＧＧ
ＡＴＣＴＧＧＧＡＣＡＣＡＧＴＴＣＡＣＴＣＴＣＡＣＣＡＴＣＡＧＣＧＧＣＧＴＧＣＡＧ
ＴＧＴＡＡＣＧＡＴＧＣＴＧＣＣＧＣＴＴＡＣＴＡＣＴＧＴＣＴＧＧＧＣＡＧＴＴＡＴＧ
ＡＴＴＧＴＡＣＴＡＡＴＧＧＴＧＡＴＴＧＴＴＴＴＧＴＴＴＴＣＧＧＣＧＧＡＧＧＧＡＣ
ＣＧＡＧＧＴＧＧＴＧＧＴＣＡＡＡＣＧＴＡＣＧＧＴＧＧＣＴＧＣＡＣＣＡＴＣＴＧＴＣ
ＴＴＣＡＴＣＴＴＣＣＣＧＣＣＡＴＣＴＧＡＴＧＡＧＣＡＧＴＴＧＡＡＡＴＣＴＧＧＡＡ
ＣＴＧＣＣＴＣＴＧＴＴＧＴＧＴＧＣＣＴＧＣＴＧＡＡＴＡＡＣＴＴＣＴＡＴＣＣＣＡＧ
ＡＧＡＧＧＣＣＡＡＡＧＴＡＣＡＧＴＧＧＡＡＧＧＴＧＧＡＴＡＡＣＧＣＣＣＴＣＣＡＡ
ＴＣＧＧＧＴＡＡＣＴＣＣＣＡＧＧＡＧＡＧＴＧＴＣＡＣＡＧＡＧＣＡＧＧＡＣＡＧＣＡ
ＡＧＧＡＣＡＧＣＡＣＣＴＡＣＡＧＣＣＴＣＡＧＣＡＧＣＡＣＣＣＴＧＡＣＧＣＴＧＡＧ
ＣＡＡＡＧＣＡＧＡＣＴＡＣＧＡＧＡＡＡＣＡＣＡＡＡＧＴＣＴＡＣＧＣＣＴＧＣＧＡＡ
ＧＴＣＡＣＣＣＡＴＣＡＧＧＧＣＣＴＧＡＧＣＴＣＧＣＣＣＧＴＣＡＣＡＡＡＧＡＧＣＴ
ＴＣＡＡＣＡＧＧＧＧＡＧＡＧＴＧＴＴＡＧ（配列番号１７２）。

40

【０３０７】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号３３の可変重鎖ボ

50

リペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

C A G T C G C T G G A G G A G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C C T G
G G A C A C C C C T G A C A C T C A C C T G T T C C G T C T C T G G C A T C G A
C C T C A G T G G C T A C T A C A T G A A C T G G G T C C G C C A G G C T C C A
G G G A A G G G G C T G G A A T G G A T C G G A G T C A T T G G T A T T A A T G
G T G C C A C A T A C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T C A C
C A T C T C C A A A A C C T C G T C G A C C A C G G T G G A T C T G A A A A T G
A C C A G T C T G A C A A C C G A G G A C A C G G C C A C C T A T T T C T G T G
C C A G A G G G G A C A T C T G G G G C C C G G G C A C C C T C G T C A C C G T
C T C G A G C (配列番号 173) 。

10

【 0308 】

本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号34の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

C A G T C G C T G G A G G A G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C C T G
G G A C A C C C C T G A C A C T C A C C T G T T C C G T C T C T G G C A T C G A
C C T C A G T G G C T A C T A C A T G A A C T G G G T C C G C C A G G C T C C A
G G G A A G G G G C T G G A A T G G A T C G G A G T C A T T G G T A T T A A T G
G T G C C A C A T A C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T C A C
C A T C T C C A A A A C C T C G T C G A C C A C G G T G G A T C T G A A A A T G
A C C A G T C T G A C A A C C G A G G A C A C G G C C A C C T A T T T C T G T G
C C A G A G G G G A C A T C T G G G G C C C G G G C A C C C T C G T C A C C G T
C T C G A G C G C C T C C A C C A A G G G C C C A T C G G T C T T C C C C C T G
G C A C C C T C C T C C A A G A G C A C C T C T G G G G G C A C A G C G G C C C
T G G G C T G C C T G G T C A A G G A C T A C T T C C C C G A A C C G G T G A C
G G T G T C G T G G A A C T C A G G C G C C C T G A C C A G C G G C G T G C A C
A C C T T C C C G G C T G T C C T A C A G T C C T C A G G A C T C T A C T C C C
T C A G C A G C G T G G T G A C C G T G C C C T C C A G C A G C T T G G G C A C
C C A G A C C T A C A T C T G C A A C G T G A A T C A C A A G C C C A G C A A C
A C C A A G G T G G A C A A G A G A G T T G A G C C C A A A T C T T G T G A C A
A A A C T C A C A C A T G C C C A C C G T G C C C A G C A C C T G A A C T C C T
G G G G G G A C C G T C A G T C T T C C T C T T C C C C C C A A A A C C C A A G
G A C A C C C T C A T G A T C T C C C G G A C C C C T G A G G T C A C A T G C G
T G G T G G T G G A C G T G A G C C A C G A A G A C C C T G A G G T C A A G T T
C A A C T G G T A C G T G G A C G G C G T G G A G G T G C A T A A T G C C A A G
A C A A A G C C G C G G G A G G A G C A G T A C G C C A G C A C G T A C C G T G
T G G T C A G C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A G G A C T G G C T G A A
T G G C A A G G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C A A C A A A G C C C T C
C C A G C C C C C A T C G A G A A A A C C A T C T C C A A A G C C A A A G G G C
A G C C C C G A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T G C C C C C A T C C C G
G G A G G A G A T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C C T G A C C T G C C T G
G T C A A A G G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G A G T G G G
A G A G C A A T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C C A C G C C
T C C C G T G C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C T T C C T C T A C A G C
A A G C T C A C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C A G C A G G G G A A C G
T C T T C T C A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C T C T G C A C A A C C A
C T A C A C G C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T C C G G G T A A A T G A
(配列番号 174) 。

20

30

40

【 0309 】

50

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号31の軽鎖可変配列または配列番号32の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号175、配列番号176、および配列番号177のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0310】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号33の重鎖可変配列または配列番号34の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号178、配列番号179、および配列番号180のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0311】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片をコードするポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、抗体断片をコードする次のポリヌクレオチドのうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号31の軽鎖可変配列をコードする配列番号171のポリヌクレオチド；配列番号32の軽鎖配列をコードする配列番号172のポリヌクレオチド；配列番号33の重鎖可変配列をコードする配列番号173のポリヌクレオチド；配列番号34の重鎖配列をコードする配列番号174のポリヌクレオチド；配列番号31の軽鎖可変配列または配列番号32の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号175、配列番号176、および配列番号177)；および配列番号33の重鎖可変配列または配列番号34の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号178、配列番号179、および配列番号180)。

【0312】

本発明の好ましい実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、CGRPへの結合特異性を有するFab断片(抗原結合断片)をコードするポリヌクレオチドを含む、あるいはそのポリヌクレオチドからなる。抗体Ab4に関して、全長のAb4抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号32の軽鎖配列をコードする配列番号172のポリヌクレオチドおよび配列番号34の重鎖配列をコードする配列番号174のポリヌクレオチドを含む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

【0313】

本発明の別の実施形態は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、または真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、ピキア酵母などの酵母細胞における発現のために発現ベクターに組み込まれているこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)が含まれるが、これに限定されない。本明細書において(下に)記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、適切な宿主での全長ポリヌクレオチドの発現の後に、Ab4の酵素(例えば、パパイン)消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab4などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞(例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母)および他の酵母株におけるAb4ポリヌクレオチドの発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)が含まれるが、これに限定されない。

【0314】

抗体Ab5

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに対象とする。本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチ

ドは、配列番号 4 1 の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT
TAGGAGACAGAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAG
TGTTTATCATAAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAA
CCAGGGAAAGTTCTTAAGCAACTGATCTATGATGCATCCA
CTCTGGCATCTGGGGTCCCCATCTCTGTTTTCAGTGGCAGTGG
ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAG
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATG
ATTGTACTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAAC
CAAGGTGGAAATCAAAACGT (配列番号 1 8 1)。

10

【0315】

本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 4 2 の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT
TAGGAGACAGAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAG
TGTTTATCATAAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAA
CCAGGGAAAGTTCTTAAGCAACTGATCTATGATGCATCCA
CTCTGGCATCTGGGGTCCCCATCTCTGTTTTCAGTGGCAGTGG
ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAG
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATG
ATTGTACTAATGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAAC
CAAGGTGGAAATCAAAACGTACGGGTGGCTGCACCATCTGTCT
TTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGGAA
CTGCCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCCAG
AGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAA
TCGGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAG
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA
GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCT
TCAACAGGGGAGAGTGTTAG (配列番号 1 8 2)。

20

30

【0316】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 4 3 の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGC
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCTCTCTGGAAT
CGACCTCAGTGGCTACTACATGAACCTGGGTCCGTCAGGCT
CCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCTGGAGTCAATTGGTATTA
ATGGTGGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATT
CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGTATCTTT
CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATT
TCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGGCCAAGGGACCCCTCGT
CACCGTCTCGAGC (配列番号 1 8 3)。

40

【0317】

本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 4 4 の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGC

50

CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGTCAGTCTCTGGAAT
CGACCTCAGTGGCTACTACATGAACCTGGGTCCGTCAAGGCT
CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGAGTCAATTGGTATTA
ATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCCGATT
CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCACGGTGATCTTT
CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTT
TCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGCCAAAGGGACCCCTCGT
CACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTTC
CCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGGCACAG
CGGCCCTGGGCTGCTTGGTCAAGGACTACTTCCCCCGAACCC
GGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGC
GTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCTACAGTCTCTCAGGACTCT
ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTT
GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCC
AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTT
GTGACAAAACCTCACACATGCCCAACCGTGCCCAAGCACCTGA
ACTCCTGGGGGGACCGTCAAGTCTTCTCTTCCCCCCCCAAAA
CCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGGTCA
CATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGT
CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGGTGCATAAT
GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGT
ACCGTGTGGTCAAGCGTCTCTACCGTCTTGCACCAAGGACTG
GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA
GCCCTCTCCAGCCCCCCTATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCCA
AAGGGCAGCCCCCGAGAACCAACAGGTGTACACCCCTGCCCCC
ATCCC GGAGAGGAGATGACCAAGAAACCAAGGTCAAGCCTGACC
TGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAAGCGACATCGCCCGTGG
AGTGGGAGAGCAATGGGCAAGCCGGAGAAACAACCTACAAAGAC
CACGCTCTCCCGTGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCTC
TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
GGAACGTCTTCTCATGCTCTCGTGATGCATGAGGCTCTGCA
CAACCACTACACGCAAGAAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT
AAATGA (配列番号184)。

【0318】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号41の軽鎖可変配列または配列番号42の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号185、配列番号186、および配列番号187のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0319】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号43の重鎖可変配列または配列番号44の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号188、配列番号189、および配列番号190のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0320】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片をコードするポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGR

10

20

30

40

50

P に対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、抗体断片をコードする次のポリヌクレオチドのうちの 1 つ、2 つ、3 つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号 4 1 の軽鎖可変配列をコードする配列番号 1 8 1 のポリヌクレオチド；配列番号 4 2 の軽鎖配列をコードする配列番号 1 8 2 のポリヌクレオチド；配列番号 4 3 の重鎖可変配列をコードする配列番号 1 8 3 のポリヌクレオチド；配列番号 4 4 の重鎖配列をコードする配列番号 1 8 4 のポリヌクレオチド；配列番号 4 1 の軽鎖可変配列または配列番号 4 2 の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号 1 8 5、配列番号 1 8 6、および配列番号 1 8 7）；および配列番号 4 3 の重鎖可変配列または配列番号 4 4 の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号 1 8 8、配列番号 1 8 9、および配列番号 1 9 0）。

10

【0321】

本発明の好ましい実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、CGRP への結合特異性を有する Fab 断片（抗原結合断片）をコードするポリヌクレオチドを含む、あるいはそのポリヌクレオチドからなる。抗体 Ab 5 に関して、全長の Ab 5 抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 4 2 の軽鎖配列をコードする配列番号 1 8 2 のポリヌクレオチドおよび配列番号 4 4 の重鎖配列をコードする配列番号 1 8 4 のポリヌクレオチドを含む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

【0322】

本発明の別の実施形態は、CHO 細胞、NSO 細胞もしくは HEK 293 細胞などの哺乳類細胞、または真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、ピキア酵母などの酵母細胞における発現のために発現ベクターに組み込まれているこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。本明細書において（下に）記載される本発明の 1 つの実施形態では、Fab 断片は、適切な宿主での全長ポリヌクレオチドの発現の後に、Ab 5 の酵素（例えば、パバイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab 5 などの抗 CGRP 抗体またはその Fab 断片は、CHO 細胞、NSO 細胞もしくは HEK 293 細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株における Ab 5 ポリヌクレオチドの発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

20

30

【0323】

抗体 Ab 6

本発明は、CGRP に対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに対象とする。本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 5 1 の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

C A A G T G C T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A T C T G
T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A A T T G C C A G G C C A G T C A G A G
T G T T T A T C A T A A C A C C T A C C T G G C C T G G T A T C A G C A G A A A
C C A G G G A A A G T T C C T A A G C A A C T G A T C T A T G A T G C A T C C A
C T C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C T C G T T T C A G T G G C A G T G G
A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G
C C T G A A G A T G T T G C A A C T T A T T A C T G T C T G G G C A G T T A T G
A T T G T A C T A A T G G T G A T T G T T T T G T T T T C G G C G G A G G A A C
C A A G G T G G A A A T C A A A C G T（配列番号 1 9 1）。

40

【0324】

本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 5 2 の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

C A A G T G C T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A T C T G

50

T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A A T T G C C A G G C C A G T C A G A G
T G T T T A T C A T A A C A C C T A C C T G G C C T G G T A T C A G C A G A A A
C C A G G G A A A G T T C C T A A G C A A C T G A T C T A T G A T G C A T C C A
C T C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C T C G T T T C A G T G G C A G T G G
A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G
C C T G A A G A T G T T G C A A C T T A T T A C T G T C T G G G C A G T T A T G
A T T G T A C T A A T G G T G A T T G T T T T G T T T T C G G C G G A G G A A C
C A A G G T G G A A A T C A A A C G T A C G G T G G C T G C A C C A T C T G T C
T T C A T C T T C C C G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A
C T G C C T C T G T T G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G
A G A G G C C A A A G T A C A G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A
T C G G G T A A C T C C C A G G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A
A G G A C A G C A C C T A C A G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G
C A A A G C A G A C T A C G A G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A
G T C A C C C A T C A G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T
T C A A C A G G G G A G A G T G T T A G (配列番号 1 9 2) 。

【 0 3 2 5 】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 5 3 の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

G A G G T G C A G C T T G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T C C A G C
C T G G G G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G T C T C T G G A A T
C G A C C T C A G T G G C T A C T A C A T G A A C T G G G T C C G T C A G G C T
C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T C G G A G T C A T T G G T A T T A
A T G G T G C C A C A T A C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T
C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A C C A C G G T G T A T C T T
C A A A T G A A C A G C C T G A G A G C T G A G G A C A C T G C T G T G T A T T
T C T G T G C T A G A G G G G A C A T C T G G G G C C A A G G G A C C C T C G T
C A C C G T C T C G A G C (配列番号 1 9 3) 。

【 0 3 2 6 】

本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 5 4 の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

G A G G T G C A G C T T G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T C C A G C
C T G G G G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G T C T C T G G A A T
C G A C C T C A G T G G C T A C T A C A T G A A C T G G G T C C G T C A G G C T
C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T C G G A G T C A T T G G T A T T A
A T G G T G C C A C A T A C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T
C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A C C A C G G T G T A T C T T
C A A A T G A A C A G C C T G A G A G C T G A G G A C A C T G C T G T G T A T T
T C T G T G C T A G A G G G G A C A T C T G G G G C C A A G G G A C C C T C G T
C A C C G T C T C G A G C G C C T C C A C C A A G G G C C C A T C G G T C T T C
C C C C T G G C A C C C T C C T C C A A G A G C A C C T C T G G G G G C A C A G
C G G C C C T G G G C T G C C T G G T C A A G G A C T A C T T C C C C G A A C C
G G T G A C G G T G T C G T G G A A C T C A G G C G C C C T G A C C A G C G G C
G T G C A C A C C T T C C C G G C T G T C C T A C A G T C C T C A G G A C T C T
A C T C C C T C A G C A G C G T G G T G A C C G T G C C C T C C A G C A G C T T
G G G C A C C C A G A C C T A C A T C T G C A A C G T G A A T C A C A A G C C C
A G C A A C A C C A A G G T G G A C G C G A G A G T T G A G C C C A A A T C T T
G T G A C A A A A C T C A C A C A T G C C C A C C G T G C C C A G C A C C T G A

A C T C C T G G G G G G A C C G T C A G T C T T C C T C T T C C C C C C A A A A
C C C A A G G A C A C C C T C A T G A T C T C C C G G A C C C C T G A G G T C A
C A T G C G T G G T G G T G G A C G T G A G C C A C G A A G A C C C T G A G G T
C A A G T T C A A C T G G T A C G T G G A C G G C G T G G A G G T G C A T A A T
G C C A A G A C A A A G C C G C G G G A G G A G C A G T A C G C C A G C A C G T
A C C G T G T G G T C A G C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A G G A C T G
G C T G A A T G G C A A G G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C A A C A A A
G C C C T C C C A G C C C C C A T C G A G A A A A C C A T C T C C A A A G C C A
A A G G G C A G C C C C G A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T G C C C C C
A T C C C G G G A G G A G A T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C C T G A C C
T G C C T G G T C A A A G G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G
A G T G G G A G A G C A A T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C
C A C G C C T C C C G T G C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C T T C C T C
T A C A G C A A A G C T C A C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C A G C A G G
G G A A C G T C T T C T C A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C T C T G C A
C A A C C A C T A C A C G C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T C C G G G T
A A A T G A (配列番号 194)。

【0327】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号51の軽鎖可変配列または配列番号52の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号195、配列番号196、および配列番号197のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0328】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号53の重鎖可変配列または配列番号54の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号198、配列番号199、および配列番号200のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0329】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片をコードするポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、抗体断片をコードする次のポリヌクレオチドのうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号51の軽鎖可変配列をコードする配列番号191のポリヌクレオチド；配列番号52の軽鎖配列をコードする配列番号192のポリヌクレオチド；配列番号53の重鎖可変配列をコードする配列番号193のポリヌクレオチド；配列番号54の重鎖配列をコードする配列番号194のポリヌクレオチド；配列番号51の軽鎖可変配列または配列番号52の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号195、配列番号196、および配列番号197)；および配列番号53の重鎖可変配列または配列番号54の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号198、配列番号199、および配列番号200)。

【0330】

本発明の好ましい実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、CGRPへの結合特異性を有するFab断片(抗原結合断片)をコードするポリヌクレオチドを含む、あるいはそのポリヌクレオチドからなる。抗体Ab6に関して、全長のAb6抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号52の軽鎖配列をコードする配列番号192のポリヌクレオチドおよび配列番号54の重鎖配列をコードする配列番号194のポリヌクレオチドを含

む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

【0331】

本発明の別の実施形態は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、または真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、ピキア酵母などの酵母細胞における発現のために発現ベクターに組み込まれているこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) が含まれるが、これに限定されない。本明細書において(下に)記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、適切な宿主での全長ポリヌクレオチドの発現の後に、Ab6の酵素(例えば、パパイン)消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab6などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞(例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母)および他の酵母株におけるAb6ポリヌクレオチドの発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) が含まれるが、これに限定されない。

10

【0332】

抗体Ab7

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに対象とする。本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号61の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

20

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCCTGCAGCTGT
TGGGAAGCACAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAG
TGTTTATAAATTACAACCTTGCCCTGGTATCAGCAGAAA
CCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA
CTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAAAGGCCAGTGG
ATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCAG
TGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCCAGTTATG
ACTGTAGTACTGGTGATTGTGTTTTGTGTTTTCGGCGGAGGGAC
CGAGGTGGTGGTCAAACGT(配列番号201)。

【0333】

本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号62の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

30

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCCTGCAGCTGT
TGGGAAGCACAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAG
TGTTTATAAATTACAACCTTGCCCTGGTATCAGCAGAAA
CCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA
CTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAAAGGCCAGTGG
ATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCAG
TGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCCAGTTATG
ACTGTAGTACTGGTGATTGTGTTTTGTGTTTTCGGCGGAGGGAC
CGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCT
TTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGGAA
CTGCCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCCAG
AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGAGGTGGATAACGCCCTCCA
TCGGGTTAACTCCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA
GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCGTCACAAAGAGCT
TCAACAGGGGAGAGTGTTAG(配列番号202)。

40

50

【 0 3 3 4 】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 6 3 の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

C A G G A G C A G C T G A A G G A G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C
C T G G G A C A T C C C T G A C A C T C A C C T G C A C C G T C T C T G G A A T
C G A C C T C A G T A A C C A C T A C A T G C A A T G G G T C C G C C A G G C T
C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G A T C G G A G T C G T T G G T A T T A
A T G G T C G C A C A T A C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T
C A C C A T C T C C A G A A C C T C G T C G A C C A C G G T G G A T C T G A A A
A T G A C C A G G C T G A C A A C C G A G G A C A C G G C C A C C T A T T T C T
G T G C C A G A G G G G A C A T C T G G G G C C C A G G C A C C C T G G T C A C
C G T C T C G A G C (配列番号 2 0 3) 。

10

【 0 3 3 5 】

本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 6 4 の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

C A G G A G C A G C T G A A G G A G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C
C T G G G A C A T C C C T G A C A C T C A C C T G C A C C G T C T C T G G A A T
C G A C C T C A G T A A C C A C T A C A T G C A A T G G G T C C G C C A G G C T
C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G A T C G G A G T C G T T G G T A T T A
A T G G T C G C A C A T A C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T
C A C C A T C T C C A G A A C C T C G T C G A C C A C G G T G G A T C T G A A A
A T G A C C A G G C T G A C A A C C G A G G A C A C G G C C A C C T A T T T C T
G T G C C A G A G G G G A C A T C T G G G G C C C A G G C A C C C T G G T C A C
C G T C T C G A G C G C C T C C A C C A A G G G C C C A T C G G T C T T C C C C
C T G G C A C C C T C C T C C A A G A G C A C C T C T G G G G G C A C A G C G G
C C C T G G G C T G C C T G G T C A A G G A C T A C T T C C C C G A A C C G G T
G A C G G T G T C G T G G A A C T C A G G C G C C C T G A C C A G C G G C G T G
C A C A C C T T C C C G G C T G T C C T A C A G T C C T C A G G A C T C T A C T
C C C T C A G C A G C G T G G T G A C C G T G C C C T C C A G C A G C T T G G G
C A C C C A G A C C T A C A T C T G C A A C G T G A A T C A C A A G C C C A G C
A A C A C C A A G G T G G A C A A G A G A G T T G A G C C C A A A T C T T G T G
A C A A A A C T C A C A C A T G C C C A C C G T G C C C A G C A C C T G A A C T
C C T G G G G G G A C C G T C A G T C T T C C T C T T C C C C C A A A A C C C
A A G G A C A C C C T C A T G A T C T C C C G G A C C C C T G A G G T C A C A T
G C G T G G T G G T G G A C G T G A G C C A C G A A G A C C C T G A G G T C A A
G T T C A A C T G G T A C G T G G A C G G C G T G G A G G T G C A T A A T G C C
A A G A C A A A G C C G C G G G A G G A G C A G T A C G C C A G C A C G T A C C
G T G T G G T C A G C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A G G A C T G G C T
G A A T G G C A A G G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C A A C A A A G C C
C T C C C A G C C C C A T C G A G A A A A C C A T C T C C A A A G C C A A A G
G G C A G C C C C G A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T G C C C C C A T C
C C G G G A G G A G A T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C C T G A C C T G C
C T G G T C A A A G G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G A G T
G G G A G A G C A A T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C C A C
G C C T C C C G T G C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C T T C C T C T A C
A G C A A G C T C A C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C A G C A G G G G A
A C G T C T T C T C A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C T C T G C A C A A
C C A C T A C A C G C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T C C G G G T A A A

20

30

40

50

T G A (配列番号 2 0 4)。

【 0 3 3 6 】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 6 1 の軽鎖可変配列または配列番号 6 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R、すなわち超可変領域) をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 2 0 5、配列番号 2 0 6、および配列番号 2 0 7 のポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【 0 3 3 7 】

本発明のさらなる実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 6 3 の重鎖可変配列または配列番号 6 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (C D R、すなわち超可変領域) をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 2 0 8、配列番号 2 0 9、および配列番号 2 1 0 のポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【 0 3 3 8 】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片をコードするポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、C G R P に対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、抗体断片をコードする次のポリヌクレオチドのうちの 1 つ、2 つ、3 つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号 6 1 の軽鎖可変配列をコードする配列番号 2 0 1 のポリヌクレオチド；配列番号 6 2 の軽鎖配列をコードする配列番号 2 0 2 のポリヌクレオチド；配列番号 6 3 の重鎖可変配列をコードする配列番号 2 0 3 のポリヌクレオチド；配列番号 6 4 の重鎖配列をコードする配列番号 2 0 4 のポリヌクレオチド；配列番号 6 1 の軽鎖可変配列または配列番号 6 2 の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド (配列番号 2 0 5、配列番号 2 0 6、および配列番号 2 0 7) ；および配列番号 6 3 の重鎖可変配列または配列番号 6 4 の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド (配列番号 2 0 8、配列番号 2 0 9、および配列番号 2 1 0) 。

【 0 3 3 9 】

本発明の好ましい実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、C G R P への結合特異性を有する F a b 断片 (抗原結合断片) をコードするポリヌクレオチドを含む、あるいはそのポリヌクレオチドからなる。抗体 A b 7 に関して、全長の A b 7 抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 6 2 の軽鎖配列をコードする配列番号 2 0 2 のポリヌクレオチドおよび配列番号 6 4 の重鎖配列をコードする配列番号 2 0 4 のポリヌクレオチドを含む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

【 0 3 4 0 】

本発明の別の実施形態は、C H O 細胞、N S O 細胞もしくは H E K 2 9 3 細胞などの哺乳類細胞、または真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、ピキア酵母などの酵母細胞における発現のために発現ベクターに組み込まれているこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス (Pichia pastoris) が含まれるが、これに限定されない。本明細書において (下に) 記載される本発明の 1 つの実施形態では、F a b 断片は、適切な宿主での全長ポリヌクレオチドの発現の後に、A b 7 の酵素 (例えば、パバイン) 消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、A b 7 などの抗 C G R P 抗体またはその F a b 断片は、C H O 細胞、N S O 細胞もしくは H E K 2 9 3 細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞 (例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母) および他の酵母株における A b 7 ポリヌクレオチドの発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス (Pichia pastoris) が含まれるが、これに限定されない。

【 0 3 4 1 】

抗体 A b 8

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに対象とする。本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号71の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT
TAGGAGACAGAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAG
TGTTTACAAATTACAACCTACCTTGCCCTGGTATCAGCAGAAA
CCAGGGGAAAGTTCTTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA
CTCTGGCATCTGGGGTCCCCATCTCGTTTTAGTGGCAGTGG
ATCTGGGACAGATTTCACTCTCAACCATCAGCAGCCTGCAG
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATG
ATTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAAC
CAAGGTGGAAATCAAAACGT (配列番号211)。

10

【0342】

本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号72の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT
TAGGAGACAGAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAG
TGTTTACAAATTACAACCTACCTTGCCCTGGTATCAGCAGAAA
CCAGGGGAAAGTTCTTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA
CTCTGGCATCTGGGGTCCCCATCTCGTTTTAGTGGCAGTGG
ATCTGGGACAGATTTCACTCTCAACCATCAGCAGCCTGCAG
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATG
ATTGTAGTACTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAAC
CAAGGTGGAAATCAAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC
TTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGGAA
CTGCCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAAG
AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGAGGTGGATAACGCCCTCCAA
TCGGGTAACTCCCCAGGAGAGTGTCAACAGAGCAGGACAGCA
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAG
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA
GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCGTCACAAAGAGCT
TCAACAGGGGAGAGTGTTAG (配列番号212)。

20

30

【0343】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号73の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGC
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGTCAGTCTCTGGGAAT
CGACCTCAGTAACCACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCT
CCAGGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCTGGAGTCTGTTGGTATCA
ATGGTCTGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATT
CACCATCTCCAGAGACAAATTCCAAGACCACGGTGTATCTT
CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATT
TCTGTGCTAGAGGGGACATCTGGGGGCCAAGGGACCCCTCGT
CACCGTCTCGAGC (配列番号213)。

40

【0344】

本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号74の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオ

50

チド配列からなる：

G A G G T G C A G C T T G T G G A G T C T G G G G A G G C T T G G T C C A G C
C T G G G G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G T C T C T G G A A T
C G A C C T C A G T A A C C A C T A C A T G C A A T G G G T C C G T C A G G C T
C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T C G G A G T C G T T G G T A T C A
A T G G T C G C A C A T A C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T
C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A C C A C G G T G T A T C T T
C A A A T G A A C A G C C T G A G A G C T G A G G A C A C T G C T G T G T A T T
T C T G T G C T A G A G G G G A C A T C T G G G G C C A A G G G A C C C T C G T
C A C C G T C T C G A G C G C C T C C A C C A A G G G C C C A T C G G T C T T C
C C C C T G G C A C C C T C C T C C A A G A G C A C C T C T G G G G G C A C A G
C G G C C C T G G G C T G C C T G G T C A A G G A C T A C T T C C C C G A A C C
G G T G A C G G T G T C G T G G A A C T C A G G C G C C C T G A C C A G C G G C
G T G C A C A C C T T C C C G G C T G T C C T A C A G T C C T C A G G A C T C T
A C T C C C T C A G C A G C G T G G T G A C C G T G C C C T C C A G C A G C T T
G G G C A C C C A G A C C T A C A T C T G C A A C G T G A A T C A C A A G C C C
A G C A A C A C C A A G G T G G A C A A G A G A G T T G A G C C C A A A T C T T
G T G A C A A A A C T C A C A C A T G C C C A C C G T G C C C A G C A C C T G A
A C T C C T G G G G G G A C C G T C A G T C T T C C T C T T C C C C C C A A A A
C C C A A G G A C A C C C T C A T G A T C T C C G G A C C C C T G A G G T C A
C A T G C G T G G T G G T G G A C G T G A G C C A C G A A G A C C C T G A G G T
C A A G T T C A A C T G G T A C G T G G A C G G C G T G G A G G T G C A T A A T
G C C A A G A C A A A G C C G C G G G A G G A G C A G T A C G C C A G C A C G T
A C C G T G T G G T C A G C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A G G A C T G
G C T G A A T G G C A A G G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C A A C A A A
G C C C T C C C A G C C C C C A T C G A G A A A A C C A T C T C C A A A G C C A
A A G G G C A G C C C C G A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T G C C C C C
A T C C C G G G A G G A G A T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C C T G A C C
T G C C T G G T C A A A G G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G
A G T G G G A G A G C A A T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C
C A C G C C T C C C G T G C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C T T C C T C
T A C A G C A A G C T C A C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C A G C A G G
G G A A C G T C T T C T C A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C T C T G C A
C A A C C A C T A C A C G C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T C C G G G T
A A A T G A (配列番号 2 1 4)。

【 0 3 4 5 】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 7 1 の軽鎖可変配列または配列番号 7 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 2 1 5、配列番号 2 1 6、および配列番号 2 1 7 のポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【 0 3 4 6 】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 7 3 の重鎖可変配列または配列番号 7 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 2 1 8、配列番号 2 1 9、および配列番号 2 2 0 のポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【 0 3 4 7 】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片をコードするポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、抗体断片をコードする次のポリヌクレオチドのうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号71の軽鎖可変配列をコードする配列番号211のポリヌクレオチド；配列番号72の軽鎖配列をコードする配列番号212のポリヌクレオチド；配列番号73の重鎖可変配列をコードする配列番号213のポリヌクレオチド；配列番号74の重鎖配列をコードする配列番号214のポリヌクレオチド；配列番号71の軽鎖可変配列または配列番号72の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号215、配列番号216、および配列番号217）；および配列番号73の重鎖可変配列または配列番号74の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号218、配列番号219、および配列番号220）。

10

【0348】

本発明の好ましい実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、CGRPへの結合特異性を有するFab断片（抗原結合断片）をコードするポリヌクレオチドを含む、あるいはそのポリヌクレオチドからなる。抗体Ab8に関して、全長のAb8抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号72の軽鎖配列をコードする配列番号212のポリヌクレオチドおよび配列番号74の重鎖配列をコードする配列番号214のポリヌクレオチドを含む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

【0349】

20

本発明の別の実施形態は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、または真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、ピキア酵母などの酵母細胞における発現のために発現ベクターに組み込まれているこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。本明細書において（下に）記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、適切な宿主での全長ポリヌクレオチドの発現の後に、Ab8の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab8などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株におけるAb8ポリヌクレオチドの発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

30

【0350】

抗体Ab9

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに対象とする。本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号81の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

CAAGTGTCTGACCCAGACTCCATCCCGTGTCCTGCAGCTGT
TGGGAAGCACAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAA
TGTTTATAATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAA
CCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACGTCCA
CTCTGTGCATCTGGGGTCTCATCAGCATTCAGAGGCAGTGG
ATCTGTGGACACAGTTCACTCTCAACCATCAGCGACGTGCAG
TGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATG
ATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGGAC
CGAGGTGGTGCTCAAACTGT（配列番号221）。

40

【0351】

本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号82の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオ

50

チド配列からなる：

C A A G T G C T G A C C C A G A C T C C A T C C C C C G T G T C T G C A G C T G
T G G G A A G C A C A G T C A C C A T C A A T T G C C A G G C C A G T C A G A A
T G T T T A T A A T A A C A A C T A C C T A G C C T G G T A T C A G C A G A A A
C C A G G G C A G C C T C C C A A G C A A C T G A T C T A T T C T A C G T C C A
C T C T G G C A T C T G G G G T C T C A T C G C G A T T C A G A G G C A G T G G
A T C T G G G A C A C A G T T C A C T C T C A C C A T C A G C G A C G T G C A G
T G T G A C G A T G C T G C C A C T T A C T A C T G T C T A G G C A G T T A T G
A T T G T A G T C G T G G T G A T T G T T T T G T T T T C G G C G G A G G G A C
C G A G G T G G T G G T C A A A C G T A C G G T G G C T G C A C C A T C T G T C
T T C A T C T T C C C G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A
C T G C C T C T G T T G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G
A G A G G C C A A A G T A C A G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A
T C G G G T A A C T C C C A G G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A
A G G A C A G C A C C T A C A G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G
C A A A G C A G A C T A C G A G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A
G T C A C C C A T C A G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T
T C A A C A G G G G A G A G T G T T A G (配列番号 2 2 2)。

10

【 0 3 5 2 】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 8 3 の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

20

C A G T C G C T G G A G G A G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C C T G
G G A C A C C C C T G A C A C T C A C C T G C A C A G T C T C T G G A A T C G G
C C T C A G T A G C T A C T A C A T G C A G T G G G T C C G C C A G T C T C C A
G G G A G G G G G C T G G A A T G G A T C G G A G T C A T T G G T A G T G A T G
G T A A G A C A T A C T A C G C G A C C T G G G C G A A A G G C C G A T T C A C
C A T C T C C A A G A C C T C G T C G A C C A C G G T G G A T C T G A G A A T G
G C C A G T C T G A C A A C C G A G G A C A C G G C C A C C T A T T T C T G T A
C C A G A G G G G A C A T C T G G G G C C C G G G G A C C C T C G T C A C C G T
C T C G A G C (配列番号 2 2 3)。

30

【 0 3 5 3 】

本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 8 4 の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

C A G T C G C T G G A G G A G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C C T G
G G A C A C C C C T G A C A C T C A C C T G C A C A G T C T C T G G A A T C G G
C C T C A G T A G C T A C T A C A T G C A G T G G G T C C G C C A G T C T C C A
G G G A G G G G G C T G G A A T G G A T C G G A G T C A T T G G T A G T G A T G
G T A A G A C A T A C T A C G C G A C C T G G G C G A A A G G C C G A T T C A C
C A T C T C C A A G A C C T C G T C G A C C A C G G T G G A T C T G A G A A T G
G C C A G T C T G A C A A C C G A G G A C A C G G C C A C C T A T T T C T G T A
C C A G A G G G G A C A T C T G G G G C C C G G G G A C C C T C G T C A C C G T
C T C G A G C G C C T C C A C C A A G G G C C C A T C G G T C T T C C C C C T G
G C A C C C T C C T C C A A G A G C A C C T C T G G G G G C A C A G C G G C C C
T G G G C T G C C T G G T C A A G G A C T A C T T C C C C G A A C C G G T G A C
G G T G T C G T G G A A C T C A G G C G C C C T G A C C A G C G G C G T G C A C
A C C T T C C C G G C T G T C C T A C A G T C C T C A G G A C T C T A C T C C C
T C A G C A G C G T G G T G A C C G T G C C C T C C A G C A G C T T G G G C A C
C C A G A C C T A C A T C T G C A A C G T G A A T C A C A A G C C C A G C A A C

40

50

A C C A A G G T G G A C A A G A G A G T T G A G C C C A A A T C T T G T G A C A
A A A C T C A C A C A T G C C C A C C G T G C C C A G C A C C T G A A C T C C T
G G G G G A C C G T C A G T C T T C C T C T T C C C C C A A A A C C C A A G
G A C A C C C T C A T G A T C T C C C G G A C C C C T G A G G T C A C A T G C G
T G G T G G T G G A C G T G A G C C A C G A A G A C C C T G A G G T C A A G T T
C A A C T G G T A C G T G G A C G G C G T G G A G G T G C A T A A T G C C A A G
A C A A A G C C G C G G G A G G A G C A G T A C G C C A G C A C G T A C C G T G
T G G T C A G C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A G G A C T G G C T G A A
T G G C A A G G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C A A C A A A G C C C T C
C C A G C C C C C A T C G A G A A A A C C A T C T C C A A A G C C A A A G G G C
A G C C C C G A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T G C C C C C A T C C C G
G G A G G A G A T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C C T G A C C T G C C T G
G T C A A A G G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G A G T G G G
A G A G C A A T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C C A C G C C
T C C C G T G C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C T T C C T C T A C A G C
A A G C T C A C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C A G C A G G G G A A C G
T C T T C T C A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C T C T G C A C A A C C A
C T A C A C G C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T C C G G G T A A A T G A
(配列番号 2 2 4)。

10

【 0 3 5 4 】

20

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 8 1 の軽鎖可変配列または配列番号 8 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 2 2 5、配列番号 2 2 6、および配列番号 2 2 7 のポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【 0 3 5 5 】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 8 3 の重鎖可変配列または配列番号 8 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 2 2 8、配列番号 2 2 9、および配列番号 2 3 0 のポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

30

【 0 3 5 6 】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片をコードするポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、抗体断片をコードする次のポリヌクレオチドのうちの 1 つ、2 つ、3 つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号 8 1 の軽鎖可変配列をコードする配列番号 2 2 1 のポリヌクレオチド；配列番号 8 2 の軽鎖配列をコードする配列番号 2 2 2 のポリヌクレオチド；配列番号 8 3 の重鎖可変配列をコードする配列番号 2 2 3 のポリヌクレオチド；配列番号 8 4 の重鎖配列をコードする配列番号 2 2 4 のポリヌクレオチド；配列番号 8 1 の軽鎖可変配列または配列番号 8 2 の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド (配列番号 2 2 5、配列番号 2 2 6、および配列番号 2 2 7)；および配列番号 8 3 の重鎖可変配列または配列番号 8 4 の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド (配列番号 2 2 8、配列番号 2 2 9、および配列番号 2 3 0)。

40

【 0 3 5 7 】

本発明の好ましい実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、CGRPへの結合特異性を有する Fab 断片 (抗原結合断片) をコードするポリヌクレオチドを含む、あるいはそのポリヌクレオチドからなる。抗体 Ab 9 に関して、全長の Ab 9 抗体をコードするポ

50

リヌクレオチドは、配列番号 82 の軽鎖配列をコードする配列番号 222 のポリヌクレオチドおよび配列番号 84 の重鎖配列をコードする配列番号 224 のポリヌクレオチドを含む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

【0358】

本発明の別の実施形態は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、または真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、ピキア酵母などの酵母細胞における発現のために発現ベクターに組み込まれているこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) が含まれるが、これに限定されない。本明細書において(下に)記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、適切な宿主での全長ポリヌクレオチドの発現の後に、Ab9の酵素(例えば、パパイン)消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab9などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞(例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母)および他の酵母株におけるAb9ポリヌクレオチドの発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) が含まれるが、これに限定されない。

【0359】

抗体Ab10

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに対象とする。本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号91の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT
TAGGAGACAGAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAA
TGTTTACAAATAACAACCTAGCCTGGTATCAGCAGAA
CCAGGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA
CTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCTGTTTTCAGTGGCAGTGG
ATCTGGGACAGATTTCACTCTCAACCATCAGCAGCCTGCAG
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATG
ATTGTAGTCTGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAAC
CAAGGTGGAAATCAAAACGT(配列番号231)。

【0360】

本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号92の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT
TAGGAGACAGAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAA
TGTTTACAAATAACAACCTAGCCTGGTATCAGCAGAA
CCAGGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA
CTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCTGTTTTCAGTGGCAGTGG
ATCTGGGACAGATTTCACTCTCAACCATCAGCAGCCTGCAG
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATG
ATTGTAGTCTGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAAC
CAAGGTGGAAATCAAAACGTACGGGTGGCTGCACCATCTGTC
TTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA
CTGCCCTCTGTTGTGTGCTGTGAATAACTTCTATCCAG
AGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCA
ATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTCAACAGAGCAGGACAGCA
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG
CAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA

G T C A C C C A T C A G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T
T C A A C A G G G G A G A G T G T T A G (配列番号 2 3 2) 。

【 0 3 6 1 】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 9 3 の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

G A G G T G C A G C T T G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T C C A G C
C T G G G G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G T C T C T G G A A T
C G G C C T C A G T A G C T A C T A C A T G C A A T G G G T C C G T C A G G C T
C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T C G G A G T C A T T G G T A G T G
A T G G T A A G A C A T A C T A C G C G A C C T G G G C G A A A G G C C G A T T
C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A C C A C G G T G T A T C T T
C A A A T G A A C A G C C T G A G A G C T G A G G A C A C T G C T G T G T A T T
T C T G T A C C A G A G G G G A C A T C T G G G G C C A A G G G A C C C T C G T
C A C C G T C T C G A G C (配列番号 2 3 3) 。

10

【 0 3 6 2 】

本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 9 4 の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

G A G G T G C A G C T T G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T C C A G C
C T G G G G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G T C T C T G G A A T
C G G C C T C A G T A G C T A C T A C A T G C A A T G G G T C C G T C A G G C T
C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T C G G A G T C A T T G G T A G T G
A T G G T A A G A C A T A C T A C G C G A C C T G G G C G A A A G G C C G A T T
C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A C C A C G G T G T A T C T T
C A A A T G A A C A G C C T G A G A G C T G A G G A C A C T G C T G T G T A T T
T C T G T A C C A G A G G G G A C A T C T G G G G C C A A G G G A C C C T C G T
C A C C G T C T C G A G C G C C T C C A C C A A G G G C C C A T C G G T C T T C
C C C C T G G C A C C C T C C T C C A A G A G C A C C T C T G G G G G C A C A G
C G G C C C T G G G C T G C C T G G T C A A G G A C T A C T T C C C C G A A C C
G G T G A C G G T G T C G T G G A A C T C A G G C G C C C T G A C C A G C G G C
G T G C A C A C C T T C C C G G C T G T C C T A C A G T C C T C A G G A C T C T
A C T C C C T C A G C A G C G T G G T G A C C G T G C C C T C C A G C A G C T T
G G G C A C C C A G A C C T A C A T C T G C A A C G T G A A T C A C A A G C C C
A G C A A C A C C A A G G T G G A C A A G A G A G T T G A G C C C A A A T C T T
G T G A C A A A A C T C A C A C A T G C C C A C C G T G C C C A G C A C C T G A
A C T C C T G G G G G G A C C G T C A G T C T T C C T C T T C C C C C C A A A A
C C C A A G G A C A C C C T C A T G A T C T C C C G G A C C C C T G A G G T C A
C A T G C G T G G T G G T G G A C G T G A G C C A C G A A G A C C C T G A G G T
C A A G T T C A A C T G G T A C G T G G A C G G C G T G G A G G T G C A T A A T
G C C A A G A C A A A G C C G C G G G A G G A G C A G T A C G C C A G C A C G T
A C C G T G T G G T C A G C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A G G A C T G
G C T G A A T G G C A A G G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C A A C A A A
G C C C T C C C A G C C C C C A T C G A G A A A A C C A T C T C C A A A G C C A
A A G G G C A G C C C C G A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T G C C C C C
A T C C C G G G A G G A G A T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C C T G A C C
T G C C T G G T C A A A G G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G
A G T G G G A G A G C A A T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C
C A C G C C T C C C G T G C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C T T C C T C
T A C A G C A A G C T C A C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C A G C A G G

20

30

40

50

G G A A C G T C T T C T C A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C T C T G C A
C A A C C A C T A C A C G C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T C C G G G T
A A A T G A (配列番号234)。

【0363】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号91の軽鎖可変配列または配列番号92の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号235、配列番号236、および配列番号237のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

10

【0364】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号93の重鎖可変配列または配列番号94の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号238、配列番号239、および配列番号240のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0365】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片をコードするポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、抗体断片をコードする次のポリヌクレオチドのうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号91の軽鎖可変配列をコードする配列番号231のポリヌクレオチド；配列番号92の軽鎖配列をコードする配列番号232のポリヌクレオチド；配列番号93の重鎖可変配列をコードする配列番号233のポリヌクレオチド；配列番号94の重鎖配列をコードする配列番号234のポリヌクレオチド；配列番号91の軽鎖可変配列または配列番号92の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号235、配列番号236、および配列番号237)；および配列番号93の重鎖可変配列または配列番号94の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号238、配列番号239、および配列番号240)。

20

30

【0366】

本発明の好ましい実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、CGRPへの結合特異性を有するFab断片(抗原結合断片)をコードするポリヌクレオチドを含む、あるいはそのポリヌクレオチドからなる。抗体Ab10に関して、全長のAb10抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号92の軽鎖配列をコードする配列番号232のポリヌクレオチドおよび配列番号94の重鎖配列をコードする配列番号234のポリヌクレオチドを含む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

【0367】

本発明の別の実施形態は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、または真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、ピキア酵母などの酵母細胞における発現のために発現ベクターに組み込まれているこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)が含まれるが、これに限定されない。本明細書において(下に)記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、適切な宿主での全長ポリヌクレオチドの発現の後に、Ab10の酵素(例えば、パパイン)消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab10などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞(例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母)および他の酵母株におけるAb10ポリヌクレオチドの発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)が含まれるが、これに限定されない。

40

50

【 0 3 6 8 】

抗体 A b 1 1

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに対象とする。本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 1 0 1 の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

C A G G T G C T G A C C C A G A C T G C A T C C C C C G T G T C T C C A G C T G
T G G G A A G C A C A G T C A C C A T C A A T T G C C G G G C C A G T C A G A G
T G T T T A T T A T A A C A A C T A C C T A G C C T G G T A T C A G C A G A A A
C C A G G G C A G C C T C C C A A G C A A C T G A T C T A T T C T A C A T C C A
C T C T G G C A T C T G G G G T C T C A T C G C G G T T C A A A G G C A G T G G
A T C T G G G A C A C A G T T C A C T C T C A C C A T C A G C G A C G T G C A G
T G T G A C G A T G C T G C C A C T T A C T A C T G T C T A G G C A G T T A T G
A T T G T A G T A A T G G T G A T T G T T T T G T T T T C G G C G G A G G G A C
C G A G G T G G T G G T C A A A C G T (配列番号 2 4 1) 。

10

【 0 3 6 9 】

本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 1 0 2 の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

C A G G T G C T G A C C C A G A C T G C A T C C C C C G T G T C T C C A G C T G
T G G G A A G C A C A G T C A C C A T C A A T T G C C G G G C C A G T C A G A G
T G T T T A T T A T A A C A A C T A C C T A G C C T G G T A T C A G C A G A A A
C C A G G G C A G C C T C C C A A G C A A C T G A T C T A T T C T A C A T C C A
C T C T G G C A T C T G G G G T C T C A T C G C G G T T C A A A G G C A G T G G
A T C T G G G A C A C A G T T C A C T C T C A C C A T C A G C G A C G T G C A G
T G T G A C G A T G C T G C C A C T T A C T A C T G T C T A G G C A G T T A T G
A T T G T A G T A A T G G T G A T T G T T T T G T T T T C G G C G G A G G G A C
C G A G G T G G T G G T C A A A C G T A C G G T G G C T G C A C C A T C T G T C
T T C A T C T T C C C G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A
C T G C C T C T G T T G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G
A G A G G C C A A A G T A C A G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A
T C G G G T A A C T C C C A G G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A
A G G A C A G C A C C T A C A G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G
C A A A G C A G A C T A C G A G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A
G T C A C C C A T C A G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T
T C A A C A G G G G A G A G T G T T A G (配列番号 2 4 2) 。

20

30

【 0 3 7 0 】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 1 0 3 の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

C A G T C G C T G G A G G A G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C C T G
G A G G A T C C C T G A C A C T C A C C T G C A C A G T C T C T G G A A T C G A
C G T C A C T A A C T A C T A T A T G C A A T G G G T C C G C C A G G C T C C A
G G G A A G G G G C T G G A A T G G A T C G G A G T C A T T G G T G T G A A T G
G T A A G A G A T A C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T C A C
C A T C T C C A A A A C C T C G T C G A C C A C G G T G G A T C T G A A A A T G
A C C A G T C T G A C A A C C G A G G A C A C G G C C A C C T A T T T C T G T G
C C A G A G G C G A C A T C T G G G G C C C G G G G A C C C T C G T C A C C G T
C T C G A G C (配列番号 2 4 3) 。

40

【 0 3 7 1 】

50

本発明の１つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号１０４の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

C A G T C G C T G G A G G A G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C C T G
G A G G A T C C C T G A C A C T C A C C T G C A C A G T C T C T G G A A T C G A
C G T C A C T A A C T A C T A T A T G C A A T G G G T C C G C C A G G C T C C A
G G G A A G G G G C T G G A A T G G A T C G G A G T C A T T G G T G T G A A T G
G T A A G A G A T A C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T C A C
C A T C T C C A A A A C C T C G T C G A C C A C G G T G G A T C T G A A A A T G
A C C A G T C T G A C A A C C G A G G A C A C G G C C A C C T A T T T C T G T G 10
C C A G A G G C G A C A T C T G G G G C C C G G G G A C C C T C G T C A C C G T
C T C G A G C G C C T C C A C C A A G G G C C C A T C G G T C T T C C C C C T G
G C A C C C T C C T C C A A G A G C A C C T C T G G G G G C A C A G C G G C C C
T G G G C T G C C T G G T C A A G G A C T A C T T C C C C G A A C C G G T G A C
G G T G T C G T G G A A C T C A G G C G C C C T G A C C A G C G G C G T G C A C
A C C T T C C C G G C T G T C C T A C A G T C C T C A G G A C T C T A C T C C C
T C A G C A G C G T G G T G A C C G T G C C C T C C A G C A G C T T G G G C A C
C C A G A C C T A C A T C T G C A A C G T G A A T C A C A A G C C C A G C A A C
A C C A A G G T G G A C A A G A G A G T T G A G C C C A A A T C T T G T G A C A
A A A C T C A C A C A T G C C C A C C G T G C C C A G C A C C T G A A C T C C T 20
G G G G G G A C C G T C A G T C T T C C T C T T C C C C C A A A A C C C A A G
G A C A C C C T C A T G A T C T C C C G G A C C C C T G A G G T C A C A T G C G
T G G T G G T G G A C G T G A G C C A C G A A G A C C C T G A G G T C A A G T T
C A A C T G G T A C G T G G A C G G C G T G G A G G T G C A T A A T G C C A A G
A C A A A G C C G C G G G A G G A G C A G T A C G C C A G C A C G T A C C G T G
T G G T C A G C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A G G A C T G G C T G A A
T G G C A A G G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C A A C A A A G C C C T C
C C A G C C C C A T C G A G A A A A C C A T C T C C A A A G C C A A A G G G C
A G C C C C G A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T G C C C C C A T C C C G
G G A G G A G A T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C C T G A C C T G C C T G 30
G T C A A A G G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G A G T G G G
A G A G C A A T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C C A C G C C
T C C C G T G C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C T T C C T C T A C A G C
A A G C T C A C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C A G C A G G G G A A C G
T C T T C T C A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C T C T G C A C A A C C A
C T A C A C G C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T C C G G G T A A A T G A
(配列番号２４４)。

【０３７２】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号１０１の軽鎖可変配列または配列番号１０２の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号２４５、配列番号２４６、および配列番号２４７のポリヌクレオチド配列のうちの１つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの１つ以上からなる。

【０３７３】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号１０３の重鎖可変配列または配列番号１０４の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号２４８、配列番号２４９、および配列番号２５０のポリヌクレオチド配列のうちの１つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの１つ以上か

10

20

30

40

50

らなる。

【0374】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片をコードするポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、抗体断片をコードする次のポリヌクレオチドのうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号101の軽鎖可変配列をコードする配列番号241のポリヌクレオチド；配列番号102の軽鎖配列をコードする配列番号242のポリヌクレオチド；配列番号103の重鎖可変配列をコードする配列番号243のポリヌクレオチド；配列番号104の重鎖配列をコードする配列番号244のポリヌクレオチド；配列番号101の軽鎖可変配列または配列番号102の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号245、配列番号246、および配列番号247）；および配列番号103の重鎖可変配列または配列番号104の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号248、配列番号249、および配列番号250）。

10

【0375】

本発明の好ましい実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、CGRPへの結合特異性を有するFab断片（抗原結合断片）をコードするポリヌクレオチドを含む、あるいはそのポリヌクレオチドからなる。抗体Ab11に関して、全長のAb11抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号102の軽鎖配列をコードする配列番号242のポリヌクレオチドおよび配列番号104の重鎖配列をコードする配列番号244のポリヌクレオチドを含む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

20

【0376】

本発明の別の実施形態は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、または真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、ピキア酵母などの酵母細胞における発現のために発現ベクターに組み込まれているこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。本明細書において（下に）記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、適切な宿主での全長ポリヌクレオチドの発現の後に、Ab11の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab11などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株におけるAb11ポリヌクレオチドの発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

30

【0377】

抗体Ab12

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに対象とする。本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号111の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

40

C A A G T G C T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A T C T G
T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A A T T G C C G G G C C A G T C A G A G
T G T T T A C T A T A A C A A C T A C C T A G C C T G G T A T C A G C A G A A A
C C A G G G A A A G T T C C T A A G C A A C T G A T C T A T T C T A C A T C C A
C T C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C T C G T T T C A G T G G C A G T G G
A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G
C C T G A A G A T G T T G C A A C T T A T T A C T G T C T G G G C A G T T A T G
A T T G T A G T A A T G G T G A T T G T T T T G T T T T C G G C G G A G G A A C
C A A G G T G G A A A T C A A A C G T（配列番号251）。

50

【 0 3 7 8 】

本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号112の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

C A A G T G C T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A T C T G
 T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A A T T G C C G G G C C A G T C A G A G
 T G T T T A C T A T A A C A A C T A C C T A G C C T G G T A T C A G C A G A A A
 C C A G G G A A A G T T C C T A A G C A A C T G A T C T A T T C T A C A T C C A
 C T C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C T C G T T T C A G T G G C A G T G G
 A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G
 C C T G A A G A T G T T G C A A C T T A T T A C T G T C T G G G C A G T T A T G
 A T T G T A G T A A T G G T G A T T G T T T T G T T T T C G G C G G A G G A A C
 C A A G G T G G A A A T C A A A C G T A C G G T G G C T G C A C C A T C T G T C
 T T C A T C T T C C C G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A
 C T G C C T C T G T T G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G
 A G A G G C C A A A G T A C A G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A
 T C G G G T A A C T C C C A G G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A
 A G G A C A G C A C C T A C A G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G
 C A A A G C A G A C T A C G A G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A
 G T C A C C C A T C A G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T
 T C A A C A G G G G A G A G T G T T A G (配列番号252)。

【 0 3 7 9 】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号113の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

G A G G T G C A G C T T G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T C C A G C
 C T G G G G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G T C T C T G G A A T
 C G A C G T C A C T A A C T A C T A C A T G C A A T G G G T C C G T C A G G C T
 C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T C G G A G T C A T T G G T G T G A
 A T G G T A A G A G A T A C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T
 C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A C C A C G G T G T A T C T T
 C A A A T G A A C A G C C T G A G A G C T G A G G A C A C T G C T G T G T A T T
 T C T G T G C C A G A G G G G A C A T C T G G G G C C A A G G G A C C C T C G T
 C A C C G T C T C G A G C (配列番号253)。

【 0 3 8 0 】

本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号114の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

G A G G T G C A G C T T G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T C C A G C
 C T G G G G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G T C T C T G G A A T
 C G A C G T C A C T A A C T A C T A C A T G C A A T G G G T C C G T C A G G C T
 C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T C G G A G T C A T T G G T G T G A
 A T G G T A A G A G A T A C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T
 C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A C C A C G G T G T A T C T T
 C A A A T G A A C A G C C T G A G A G C T G A G G A C A C T G C T G T G T A T T
 T C T G T G C C A G A G G G G A C A T C T G G G G C C A A G G G A C C C T C G T
 C A C C G T C T C G A G C G C C T C C A C C A A G G G C C C A T C G G T C T T C
 C C C C T G G C A C C C T C C T C C A A G A G C A C C T C T G G G G G C A C A G
 C G G C C C T G G G C T G C C T G G T C A A G G A C T A C T T C C C C G A A C C
 G G T G A C G G T G T C G T G G A A C T C A G G C G C C C T G A C C A G C G G C

GTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCTACAGTCTCTCAGGACTCTT
ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTT
GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCC
AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCCAAATCTTT
GTGACAAAACTCACACATGCCCAACCGTGCCCAAGCACCTGA
ACTCCTGGGGGGACCGTCTAGTCTTCTCTCTCCCCCAAAA
CCCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCCGACCCCTGAGGTCA
CATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGT
CAAGTTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGGTGCATAAT
GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGT
ACCGTGTGGTTCAGCGTCTCTACCGTCTCTGCACCAGGACTG
GCTGAATGGCAAGGAGTACAAAGTGCAAGGTCTCCAACA
GCCCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCA
AAGGGCAGCCCCGAGAACCAACAGGTGTACACCCCTGCCCCC
ATCCC GGAGAGGAGATGACCAAGAAACAGGTCTAGCCTGACC
TGCCCTGGTCAAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGG
AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGAC
CAGGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTCTTCTCTCTC
TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA
CAACCACCTACACGCAGAAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT
AAATGA (配列番号254)。

【0381】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号111の軽鎖可変配列または配列番号112の軽鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号255、配列番号256、および配列番号257のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0382】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号113の重鎖可変配列または配列番号114の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号258、配列番号259、および配列番号260のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0383】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片をコードするポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、抗体断片をコードする次のポリヌクレオチドのうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号111の軽鎖可変配列をコードする配列番号251のポリヌクレオチド；配列番号112の軽鎖配列をコードする配列番号252のポリヌクレオチド；配列番号113の重鎖可変配列をコードする配列番号253のポリヌクレオチド；配列番号114の重鎖配列をコードする配列番号254のポリヌクレオチド；配列番号111の軽鎖可変配列または配列番号112の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号255、配列番号256、および配列番号257)；および配列番号113の重鎖可変配列または配列番号114の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号258、配列番号259、および配列番号260)。

【 0 3 8 4 】

本発明の好ましい実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、C G R P への結合特異性を有する F a b 断片（抗原結合断片）をコードするポリヌクレオチドを含む、あるいはそのポリヌクレオチドからなる。抗体 A b 1 2 に関して、全長の A b 1 2 抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 1 1 2 の軽鎖配列をコードする配列番号 2 5 2 のポリヌクレオチドおよび配列番号 1 1 4 の重鎖配列をコードする配列番号 2 5 4 のポリヌクレオチドを含む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

【 0 3 8 5 】

本発明の別の実施形態は、C H O 細胞、N S O 細胞もしくは H E K 2 9 3 細胞などの哺乳類細胞、または真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、ピキア酵母などの酵母細胞における発現のために発現ベクターに組み込まれているこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) が含まれるが、これに限定されない。本明細書において（下に）記載される本発明の 1 つの実施形態では、F a b 断片は、適切な宿主での全長ポリヌクレオチドの発現の後に、A b 1 2 の酵素（例えば、パパイン）消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、A b 1 2 などの抗 C G R P 抗体またはその F a b 断片は、C H O 細胞、N S O 細胞もしくは H E K 2 9 3 細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株における A b 1 2 ポリヌクレオチドの発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) が含まれるが、これに限定されない。

【 0 3 8 6 】

抗体 A b 1 3

本発明は、C G R P に対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに対象とする。本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 1 2 1 の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

G C C A T C G T G A T G A C C C A G A C T C C A T C T T C C A A G T C T G T C C
C T G T G G G A G A C A C A G T C A C C A T C A A T T G C C A G G C C A G T G A
G A G T C T T T A T A A T A A C A A C G C C T T G G C C T G G T T T C A G C A G
A A A C C A G G G C A G C C T C C C A A G C G C C T G A T C T A T G A T G C A T
C C A A A C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C G C G G T T C A G T G G C G G
T G G G T C T G G G A C A C A G T T C A C T C T C A C C A T C A G T G G C G T G
C A G T G T G A C G A T G C T G C C A C T T A C T A C T G T G G A G G C T A C A
G A A G T G A T A G T G T T G A T G G T G T T G C T T T C G C C G G A G G G A C
C G A G G T G G T G G T C A A A C G T（配列番号 2 6 1）。

【 0 3 8 7 】

本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 1 2 2 の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

G C C A T C G T G A T G A C C C A G A C T C C A T C T T C C A A G T C T G T C C
C T G T G G G A G A C A C A G T C A C C A T C A A T T G C C A G G C C A G T G A
G A G T C T T T A T A A T A A C A A C G C C T T G G C C T G G T T T C A G C A G
A A A C C A G G G C A G C C T C C C A A G C G C C T G A T C T A T G A T G C A T
C C A A A C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C G C G G T T C A G T G G C G G
T G G G T C T G G G A C A C A G T T C A C T C T C A C C A T C A G T G G C G T G
C A G T G T G A C G A T G C T G C C A C T T A C T A C T G T G G A G G C T A C A
G A A G T G A T A G T G T T G A T G G T G T T G C T T T C G C C G G A G G G A C
C G A G G T G G T G G T C A A A C G T A C G G T G G C T G C A C C A T C T G T C
T T C A T C T T C C C G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A
C T G C C T C T G T T G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G

AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGAGGTGGATAACGCCCTCCAA
TCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAG
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA
GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCGTCACAAAGAGCT
TCAACAGGGGAGAGTGTTAG (配列番号262)。

【0388】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号123の可変重鎖
ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌク
レオチド配列からなる：

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCCTGGTCCAGCCTG
AGGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTTCGA
CTTCAGTAGCAATGCAATGTGGTGGGTCCGCCAGGCTCCA
GGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCATTTACAAATGGTG
ATGGCAGCACATACTACGCGAGCTGGGTGAATGGCCGATT
CTCCATCTCCAAACCTCGTCGACCACGGTGACTCTGCAA
CTGAATAGTCTGACAGTCTGCGGACACGGCCACGTATTATT
GTGCGAGAGATCTTGACTTGTGGGGCCCCGGGCACCCCTCGT
CACCGTCTCGAGC (配列番号263)。

【0389】

本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号124の重鎖ポ
リペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌク
レオチド配列からなる：

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCCTGGTCCAGCCTG
AGGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTTCGA
CTTCAGTAGCAATGCAATGTGGTGGGTCCGCCAGGCTCCA
GGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCATTTACAAATGGTG
ATGGCAGCACATACTACGCGAGCTGGGTGAATGGCCGATT
CTCCATCTCCAAACCTCGTCGACCACGGTGACTCTGCAA
CTGAATAGTCTGACAGTCTGCGGACACGGCCACGTATTATT
GTGCGAGAGATCTTGACTTGTGGGGCCCCGGGCACCCCTCGT
CACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCCATCGGTCTTC
CCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCGACAG
CGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC
GGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGC
GTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTACAGTCTCTCAGGACTCT
ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTT
GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCC
AGCAACACCAAGGTGGACAAAGAGAGTTGAGCCCCAAATCTT
GTGACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCCAGCACCTGA
ACTCCTGGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAA
CCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC
CATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGT
CAAGTTCAAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT
GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGT
ACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCGTCTGCAACCAGGACTG
GCTGAATGGCAAGGAGTACAAAGTGCAAAGGTCTCCAACAAA
GCCCTCCCCAGCCCCCATCGAGAAACCATCTCCAAGCCA
AAGGGCAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACCCCTGCCCCC
ATCCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGGTCAAGCCTGACC

T G C C T G G T C A A A G G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G
A G T G G G A G A G C A A T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C
C A C G C C T C C C G T G C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C T T C C T C
T A C A G C A A G C T C A C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C A G C A G G
G G A A C G T C T T C T C A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C T C T G C A
C A A C C A C T A C A C G C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T C C G G G T
A A A T G A (配列番号 2 6 4)。

【 0 3 9 0 】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 1 2 1 の軽鎖可変配列または配列番号 1 2 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 2 6 5、配列番号 2 6 6、および配列番号 2 6 7 のポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

10

【 0 3 9 1 】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 1 2 3 の重鎖可変配列または配列番号 1 2 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 2 6 8、配列番号 2 6 9、および配列番号 2 7 0 のポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

20

【 0 3 9 2 】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片をコードするポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の 1 つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、抗体断片をコードする次のポリヌクレオチドのうちの 1 つ、2 つ、3 つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号 1 2 1 の軽鎖可変配列をコードする配列番号 2 6 1 のポリヌクレオチド；配列番号 1 2 2 の軽鎖配列をコードする配列番号 2 6 2 のポリヌクレオチド；配列番号 1 2 3 の重鎖可変配列をコードする配列番号 2 6 3 のポリヌクレオチド；配列番号 1 2 4 の重鎖配列をコードする配列番号 2 6 4 のポリヌクレオチド；配列番号 1 2 1 の軽鎖可変配列または配列番号 1 2 2 の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド (配列番号 2 6 5、配列番号 2 6 6、および配列番号 2 6 7)；および配列番号 1 2 3 の重鎖可変配列または配列番号 1 2 4 の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド (配列番号 2 6 8、配列番号 2 6 9、および配列番号 2 7 0)。

30

【 0 3 9 3 】

本発明の好ましい実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、CGRPへの結合特異性を有する Fab 断片 (抗原結合断片) をコードするポリヌクレオチドを含む、あるいはそのポリヌクレオチドからなる。抗体 Ab 1 3 に関して、全長の Ab 1 3 抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 1 2 2 の軽鎖配列をコードする配列番号 2 6 2 のポリヌクレオチドおよび配列番号 1 2 4 の重鎖配列をコードする配列番号 2 6 4 のポリヌクレオチドを含む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

40

【 0 3 9 4 】

本発明の別の実施形態は、CHO 細胞、NSO 細胞もしくは HEK 2 9 3 細胞などの哺乳類細胞、または真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、ピキア酵母などの酵母細胞における発現のために発現ベクターに組み込まれているこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス (Pichia pastoris) が含まれるが、これに限定されない。本明細書において (下に) 記載される本発明の 1 つの実施形態では、Fab 断片は、適切な宿主での全長ポリヌクレオチドの発現の後に、Ab 1 3 の酵素 (例えば、パパイン) 消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab 1 3 など

50

の抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母）および他の酵母株におけるAb13ポリヌクレオチドの発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が含まれるが、これに限定されない。

【0395】

抗体Ab14

本発明は、CGRPに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに対象とする。本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号131の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

```
CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT  
TAGGAGACAGAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAA  
TGTTTACAAATAACAACCTAGCCTGGTATCAGCAGAA  
CCAGGGAAAGTTCTTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
CTCTGGCATCTGGGGTCCCCATCTCGTTTTCAGTGGCAGTGG  
ATCTGGGACAGATTTCACTCTCAACCATCAGCAGCCTGCAG  
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATG  
ATTGTAGTCTGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAAC  
CAAGGTGGAAATCAAAACGT（配列番号271）。
```

【0396】

本発明の1つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号132の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

```
CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT  
TAGGAGACAGAGTCAACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAAGAA  
TGTTTACAAATAACAACCTAGCCTGGTATCAGCAGAA  
CCAGGGAAAGTTCTTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
CTCTGGCATCTGGGGTCCCCATCTCGTTTTCAGTGGCAGTGG  
ATCTGGGACAGATTTCACTCTCAACCATCAGCAGCCTGCAG  
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATG  
ATTGTAGTCTGTGGTGATTGTTTTGTTTTTCGGCGGAGGAAC  
CAAGGTGGAAATCAAAACGTACGGGTGGCTGCACCATCTGTC  
TTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGGAA  
CTGCCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAG  
AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGAGGTGGATAACGCCCTCCAA  
TCGGGTAACTCCCAAGGAGAGTGTCAACAGCAGGACAGCA  
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAG  
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCT  
TCAACAGGGGAGAGTGTTAG（配列番号272）。
```

【0397】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号133の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

```
GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGC  
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCACTCTCTGGAAT  
CGGCCCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCT  
CCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCTGGAGTCAATTGGTAGTG  
ATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCCGATT
```

C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A C C A C G G T G T A T C T T
C A A A T G A A C A G C C T G A G A G C T G A G G A C A C T G C T G T G T A T T
T C T G T A C C A G A G G G G A C A T C T G G G G C C A A G G G A C C C T C G T
C A C C G T C T C G A G C (配列番号 2 7 3)。

【 0 3 9 8 】

本発明の 1 つの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 1 3 4 の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のポリヌクレオチド配列を含む、あるいはそのポリヌクレオチド配列からなる：

G A G G T G C A G C T T G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T C C A G C
C T G G G G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G T C T C T G G A A T 10
C G G C C T C A G T A G C T A C T A C A T G C A A T G G G T C C G T C A G G C T
C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T C G G A G T C A T T G G T A G T G
A T G G T A A G A C A T A C T A C G C G A C C T G G G C G A A A G G C C G A T T
C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A C C A C G G T G T A T C T T
C A A A T G A A C A G C C T G A G A G C T G A G G A C A C T G C T G T G T A T T
T C T G T A C C A G A G G G G A C A T C T G G G G C C A A G G G A C C C T C G T
C A C C G T C T C G A G C G C C T C C A C C A A G G G C C C A T C G G T C T T C
C C C C T G G C A C C C T C C T C C A A G A G C A C C T C T G G G G G C A C A G
C G G C C C T G G G C T G C C T G G T C A A G G A C T A C T T C C C C G A A C C
G G T G A C G G T G T C G T G G A A C T C A G G C G C C C T G A C C A G C G G C 20
G T G C A C A C C T T C C C G G C T G T C C T A C A G T C C T C A G G A C T C T
A C T C C C T C A G C A G C G T G G T G A C C G T G C C C T C C A G C A G C T T
G G G C A C C C A G A C C T A C A T C T G C A A C G T G A A T C A C A A G C C C
A G C A A C A C C A A G G T G G A C G C G A G A G T T G A G C C C A A A T C T T
G T G A C A A A A C T C A C A C A T G C C C A C C G T G C C C A G C A C C T G A
A C T C C T G G G G G A C C G T C A G T C T T C C T C T T C C C C C A A A A
C C C A A G G A C A C C C T C A T G A T C T C C C G G A C C C C T G A G G T C A
C A T G C G T G G T G G T G G A C G T G A G C C A C G A A G A C C C T G A G G T
C A A G T T C A A C T G G T A C G T G G A C G G C G T G G A G G T G C A T A A T
G C C A A G A C A A A G C C G C G G G A G G A G C A G T A C G C C A G C A C G T 30
A C C G T G T G G T C A G C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A G G A C T G
G C T G A A T G G C A A G G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C A A C A A A
G C C C T C C C A G C C C C C A T C G A G A A A A C C A T C T C C A A A G C C A
A A G G G C A G C C C C G A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T G C C C C C
A T C C C G G G A G G A G A T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C C T G A C C
T G C C T G G T C A A A G G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G
A G T G G G A G A G C A A T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C
C A C G C C T C C C G T G C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C T T C C T C
T A C A G C A A G C T C A C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C A G C A G G
G G A A C G T C T T C T C A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C T C T G C A 40
C A A C C A C T A C A C G C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T C C G G G T
A A A T G A (配列番号 2 7 4)。

【 0 3 9 9 】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 1 3 1 の軽鎖可変配列または配列番号 1 3 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R、すなわち超可変領域) をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 2 7 5、配列番号 2 7 6、および配列番号 2 7 7 のポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

【 0 4 0 0 】

本発明のさらなる実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号133の重鎖可変配列または配列番号134の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号278、配列番号279、および配列番号280のポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上からなる。

【0401】

本発明は、本明細書に記載される抗体断片をコードするポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の1つの実施形態では、CGRPに対する結合特異性を有する抗体断片をコードするポリヌクレオチドは、抗体断片をコードする次のポリヌクレオチドのうちの1つ、2つ、3つ、または全てを含むそれより多くを包含する、あるいはそれらからなる：配列番号131の軽鎖可変配列をコードする配列番号271のポリヌクレオチド；配列番号132の軽鎖配列をコードする配列番号272のポリヌクレオチド；配列番号133の重鎖可変配列をコードする配列番号273のポリヌクレオチド；配列番号134の重鎖配列をコードする配列番号274のポリヌクレオチド；配列番号131の軽鎖可変配列または配列番号132の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号275、配列番号276、および配列番号277)；および配列番号133の重鎖可変配列または配列番号134の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号278、配列番号279、および配列番号280)。

【0402】

本発明の好ましい実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、CGRPへの結合特異性を有するFab断片(抗原結合断片)をコードするポリヌクレオチドを含む、あるいはそのポリヌクレオチドからなる。抗体Ab14に関して、全長のAb14抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号132の軽鎖配列をコードする配列番号272のポリヌクレオチドおよび配列番号134の重鎖配列をコードする配列番号274のポリヌクレオチドを含む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

【0403】

本発明の別の実施形態は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、または真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、ピキア酵母などの酵母細胞における発現のために発現ベクターに組み込まれているこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)が含まれるが、これに限定されない。本明細書において(下に)記載される本発明の1つの実施形態では、Fab断片は、適切な宿主での全長ポリヌクレオチドの発現の後に、Ab14の酵素(例えば、ババイン)消化により作製され得る。本発明の別の実施形態では、Ab14などの抗CGRP抗体またはそのFab断片は、CHO細胞、NSO細胞もしくはHEK293細胞などの哺乳類細胞、真菌系、昆虫系、または微生物系、例えば、酵母細胞(例えば、二倍体ピキア属などの二倍体酵母)および他の酵母株におけるAb14ポリヌクレオチドの発現により作製され得る。適切なピキア属の種にはピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)が含まれるが、これに限定されない。

【0404】

1つの実施形態では、本発明は、配列番号3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123もしくは133から選択される抗CGRP V_H抗体のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、または少なくとも1つのフレームワーク残基(FR残基)がウサギ抗CGRP抗体のV_Hポリペプチド中の対応する位置に存在するアミノ酸で置換されている、もしくは保存的アミノ酸置換により置換されているその変異体をコードするポリヌクレオチドを含む単離ポリヌクレオチドを対象とする。

【0405】

別の実施形態では、本発明は、1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、もしくは131の抗CGRP V_L抗体アミノ酸配列

をコードするポリヌクレオチド配列、または少なくとも1つのフレームワーク残基（FR残基）がウサギ抗CGRP抗体のV_Lポリペプチド中の対応する位置に存在するアミノ酸で置換されている、もしくは保存的アミノ酸置換により置換されているその変異体をコードするポリヌクレオチド配列を含む単離ポリヌクレオチドを対象とする。

【0406】

さらに別の実施形態では、本発明は、配列番号1および配列番号3；配列番号11および配列番号13、配列番号21および配列番号23、配列番号31および配列番号33、配列番号41および配列番号43、配列番号51および配列番号53、配列番号61および配列番号63、配列番号71および配列番号73、配列番号81および配列番号83、配列番号91および配列番号93、配列番号101および配列番号103、配列番号111および配列番号113、配列番号121および配列番号123、または配列番号131および配列番号133に含まれるポリペプチドをコードする配列を含む1つ以上の異種性ポリヌクレオチドを対象とする。

【0407】

別の実施形態では、本発明は、抗CGRP抗体に由来する少なくとも1つのCDRポリペプチドを含むポリペプチドであって、前記の発現したポリペプチドだけでCGRPに特異的に結合するポリペプチド、または抗CGRP抗体に由来する少なくとも1つのCDRポリペプチドを含むポリペプチドを発現する別のポリヌクレオチド配列と併せて発現すると、前記の発現したポリペプチドがCGRPに特異的に結合する、前記の少なくとも1つのCDRが配列番号1、3、11、13、21、23、31、33、41、43、51、53、61、63、71、73、81、83、91、93、101、103、111、113、121、123、131、または配列番号133のV_LポリペプチドまたはV_Hポリペプチドに含まれるCDRから選択される、そのポリペプチドを発現する単離ポリヌクレオチドを対象とする。

【0408】

前記のポリヌクレオチドを含む宿主細胞およびベクターも企図される。

【0409】

本発明は、本明細書に記載される重鎖可変ポリペプチド配列および軽鎖可変ポリペプチド配列ならびに個々の相補性決定領域（CDR、すなわち超可変領域）をコードするポリヌクレオチド配列を含むベクター、ならびに前記ベクター配列を含む宿主細胞をさらに企図する。本発明の1つの実施形態では、その宿主細胞は酵母細胞である。本発明の別の実施形態では、その酵母宿主細胞はピキア属に属する。

【0410】

B細胞のスクリーニングおよび単離

1つの実施形態では、本発明は、少なくとも1つのCGRP抗原特異的細胞の単離に使用することができる抗原特異的B細胞のクローン集団の調製および単離を企図しており、そのCGRP抗原特異的細胞はCGRPに対するモノクローナル抗体またはそのような抗体に対応する核酸配列の作製に使用され得、そのモノクローナル抗体は所望のCGRP抗原に特異的である。抗原特異的B細胞の前記のクローン集団を調製および単離する方法は、例えば、Carvalho Jensenらの米国特許出願公開第2007/0269868号に教示されており、その開示は、全体が参照により本明細書に組み込まれる。抗原特異的B細胞の前記のクローン集団を調製および単離する方法は本明細書中の実施例においても教示される。大きさまたは密度によって細胞集団を「濃縮する」方法は当技術分野において公知である。例えば、米国特許第5,627,052号を参照のこと。これらのステップは抗原特異性による細胞集団の濃縮に加えて使用され得る。

【0411】

抗体のヒト化方法

別の実施形態では、本発明は、抗体の重鎖および軽鎖をヒト化するための方法を企図する。抗CGRP抗体に適用することができる、抗体の重鎖および軽鎖をヒト化するための方法は、例えば、Olsonらの米国特許出願公開第2009/0022659号および

Garcia Martinezらの米国特許第7,935,340号に教示されており、それらのそれぞれの開示は、全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0412】

抗体およびその断片を生産する方法

別の実施形態では、本発明は、抗CGRP抗体およびその断片を生産する方法を企図する。接合可能酵母の倍数体、好ましくは二倍体または四倍体から分泌される抗CGRP抗体およびその断片の生産方法は、例えばOlsonらの米国特許出願公開第2009/0022659号、Garcia-Martinezらの米国特許第7,935,340号で教示されている。これらの各々の開示内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0413】

抗体を生産する他の方法は当業者によく知られている。例えばキメラ抗体の生産方法は、今では当業者によく知られている（例えば、Cabillyらに発行された米国特許第4,816,567号；Morrison et al., P.N.A.S. USA, 81:8651-55 (1984)；Neuberger, M.S. et al., Nature, 314:268-270 (1985)；Boulianne, G.L. et al., Nature, 312:643-46 (1984)を参照のこと。これらの各々の開示内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0414】

同様に、ヒト化抗体を生産する他の方法も今では当業者によく知られている（例えば、Queenらの米国特許第5,530,101号、第5,585,089号、第5,693,762号、および第6,180,370；Winterらの米国特許第5,225,539号および第6,548,640号；Carterらの米国特許第6,054,297号、第6,407,213号、および第6,639,055号；Adairらの米国特許第6,632,927号；Jones, P.T. et al, Nature, 321:522-525 (1986)；Reichmann, L., et al, Nature, 332:323-327 (1988)；Verhoeyen, M, et al, Science, 239:1534-36 (1988)を参照のこと。これらの各々の開示内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0415】

CGRP結合特異性を有する本発明の抗体ポリペプチドは、当業者に周知の従来の手法を用いてオペロンを含み、かつ抗体重鎖をコードするDNA配列を含む発現ベクターを構築することによって生産されることもできる。この場合、抗体特異性に必要とされるCDRをコードするDNA配列はヒト以外の細胞源、好ましくはウサギB細胞源に由来し、抗体鎖の残り部分をコードするDNA配列はヒト細胞源に由来する。

【0416】

オペロンを含み、かつ抗体軽鎖をコードするDNA配列を含む第2の発現ベクターを、当業者の周知の従来の手法を用いて作製する。この場合、抗体特異性に必要とされるCDRをコードするDNA配列はヒト以外の細胞源、好ましくはウサギB細胞源に由来し、抗体鎖の残り部分をコードするDNA配列はヒト細胞源に由来する。

【0417】

これらの発現ベクターを、当業者に周知の従来手法で宿主細胞に形質移入することにより、形質移入宿主細胞を作製し、この形質移入宿主細胞を当業者に周知の従来手法で培養することにより、上記の抗体ポリペプチドを生産する。

【0418】

上記の2つの発現ベクター、すなわち、オペロンおよび軽鎖由来ポリペプチドをコードするDNAを含有する第1の発現ベクターと、オペロンおよび重鎖由来ポリペプチドをコードするDNAを含有する第2の発現ベクターを用いて、宿主細胞を同時に形質移入してよい。この2つのベクターは異なる選択可能マーカ含有するが、好ましくは、重鎖ポリペプチドと軽鎖ポリペプチドの実質的に同等の発現を達成する。あるいは単一のベクターを使用してもよく、この場合、このベクターは、重鎖ポリペプチドと軽鎖ポリペプチドの両方をコードするDNAを含む。重鎖と軽鎖をコードする配列は、cDNA、ゲノムDNAのいずれか一方または両方を含み得る。

【0419】

抗体ポリペプチドの発現に使用する宿主細胞は、大腸菌などの細菌細胞、またはP・パストリスなどの真核細胞であってよい。本発明の1つの実施形態では、この目的で明確に定義された哺乳動物細胞、例えば骨髄腫細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞株、NSO細胞株、HEK293細胞株などを使用してよい。

【0420】

ベクターを構築することができる一般的方法、宿主細胞を作製するための形質移入方法、および前記の宿主細胞から抗体ポリペプチドを生産するための培養方法のいずれも、従来の手法を含む。抗体の生産に使用する細胞株は、好ましくは哺乳動物の細胞株であるが、他の適切な細胞株、例えば大腸菌由来菌株などの細菌細胞株や酵母細胞株も、代わりに使用してよい。

10

【0421】

同様に、生産した抗体ポリペプチドを、クロスフロー濾過、硫酸沈殿、アフィニティークラムクロマトグラフィーなどの標準的手順に従って精製してよい。

【0422】

また、本明細書に記載の抗体ポリペプチドを用いて、本発明の抗体ポリペプチドと同一の治療応用に有用と考えられるペプチド模倣物または非ペプチド模倣物を設計および合成することもできる。例えばSaragobi et al, Science, 253:792-795 (1991)を参照のこと。参照によりこの文献の全体が本明細書に組み込まれる。

【0423】

スクリーニングアッセイ

20

本発明は、CGRP関連の疾患または障害の症状を示す患者におけるCGRP関連の疾患または障害の特定を支援するように設計されたスクリーニングアッセイも含む。

【0424】

本発明の1つの実施形態では、本発明の抗CGRP抗体またはそのCGRP結合断片を使用して、CGRP関連の疾患または障害の症状を示す患者から取得した生物試料中のCGRPの存在を検出する。CGRPが存在すること、または類似の生物試料中の疾患前CGRPレベルと比較してCGRPレベルが上昇していることは、CGRP関連の疾患または障害を診断する際に有益であり得る。

【0425】

本発明の別の実施形態は、本明細書に明記するCGRP関連の疾患または障害の症状を示す患者におけるCGRP関連の疾患または障害の診断を支援するための診断アッセイまたはスクリーニングアッセイを提供する。このアッセイは、翻訳後に改変された抗CGRP抗体またはその結合断片を使用して、上記患者から取得した生物試料中のCGRP発現レベルをアッセイすることを含む。抗CGRP抗体またはその結合断片を翻訳後に改変して、本開示で上述したような検出可能部分を含めることができる。

30

【0426】

生物試料中のCGRPレベルを判定するには、本明細書に記載の改変された抗CGRP抗体またはその結合断片を使用し、標準のCGRPレベル（例えば、正常な生物試料中のレベル）と生物試料中のCGRPレベルを比較する。熟練した臨床医であれば、正常な生物試料間に若干のばらつきが存在することを理解し、結果を評価するときこのようなばらつきを考慮に入れるであろう。本発明の1つの実施形態では、本発明の抗CGRP抗体を使用して、CGRP発現レベルと特定の癌発症ステージとを関連させることができる。当業者であれば、臨床的に定義された各癌発症ステージに対応するCGRP発現範囲を確立する目的で、多数の対象のCGRPを測定できるであろう。このような範囲を確立することにより、当業者は、癌と診断された対象のCGRPを測定して、各対象のレベルを、その癌のステージに対応する範囲と関連させることが可能になる。当業者であれば、患者のCGRPを様々な時間間隔で測定することにより癌の進行を判定できることを理解するであろう。

40

【0427】

上記のアッセイは、疾患または障害をモニタリングする際にも有用であり得る。この場

50

合、CGRP関連の疾患または障害を有すると考えられる患者から取得した生物試料中のCGRPレベルを、同一患者から取得した事前の生物試料中のCGRPレベルと比較することにより、前記の患者のCGRPレベルが、例えば治療計画によって変化したかどうかを確認する。

【0428】

本発明は、インビボで画像化する方法も指向している。この方法は、CGRPを発現する細胞の存在を検出するものであり、診断有効量の診断組成物を投与することを含む。上記のインビボの画像化は、例えば腫瘍や転移を発現するCGRPを検出または画像化する上で有用であり、効果的な癌治療プロトコルを設計するための計画レジメンの1つとして有用であり得る。この治療プロトコルには、抗CGRP抗体またはその断片に加えて、例えば放射線、化学療法、サイトカイン療法、遺伝子治療、抗体治療のうちの1つ以上が含まれ得る。

【0429】

本発明はさらに、本発明の抗CGRP抗体とCGRPの結合を検出するためのキットを提供する。このキットを使用すると、特に、本発明の抗CGRP抗体またはその免疫反応性断片と特異的に反応するCGRPの存在を検出することができる。このキットには、基質と結合した抗体と、抗原と反応する二次抗体と、この二次抗体と抗原の反応を検出する試薬も含まれていてもよい。このようなキットはELISAキットであってよく、適宜、基質および一次抗体と二次抗体を含み、検出可能部分、酵素基質、呈色試薬などの他の必要な試薬、例えば本明細書に記載の試薬を含むことができる。診断キットは、免疫ブロットキットの形態であってもよい。診断キットは、化学発光キット（メソスケールディスカバリー社、メリーランド州ゲイサースバーグ）の形態であってもよい。診断キットは、ランタニド系検出キット（パーキンエルマー社、カリフォルニア州サンノゼ）であってもよい。

【0430】

熟練した臨床医であれば、生物試料には血清、血漿、尿、唾液、粘液、胸水、滑液、髄液が含まれるが、これらに限定されないことを理解するであろう。

【0431】

CGRPに関連する疾患および障害の症状を改善もしくは軽減する方法、またはCGRPに関連する疾患および障害を治療もしくは予防する方法

本発明の別の実施形態では、本明細書に記載の抗CGRP抗体またはその断片は、CGRP関連の疾患および障害の症状の改善もしくは軽減、またはCGRP関連の疾患および障害の治療もしくは予防に有用である。本明細書に記載の抗CGRP抗体またはその断片および組み合わせの治療有効量を、CGRP関連の疾患および障害の治療を必要とする患者に対して、以下でより詳しく述べる医薬組成物の形で投与することもできる。

【0432】

本発明の別の実施形態では、本明細書に記載の抗CGRP抗体またはその断片は、（前兆を有する、もしくは有しない）偏頭痛、体重減少、癌もしくは腫瘍、癌もしくは腫瘍の増殖に関連する血管新生、癌もしくは腫瘍の生存に関連する血管新生、疼痛、片麻痺性偏頭痛、群発頭痛、偏頭痛性神経痛、慢性頭痛、緊張性頭痛、一般の頭痛、のぼせ、慢性発作性片側頭痛、頭頸部にある根底的構造問題に起因する二次性頭痛、頭蓋神経痛、副鼻腔性頭痛（例えば副鼻腔炎に伴う頭痛）、およびアレルギー誘発性の頭痛もしくは偏頭痛の症状の改善もしくは軽減、またはこれらの治療もしくは予防に有用である。

【0433】

本発明の1つの実施形態では、第二剤を伴うか伴わない本明細書に記載の抗CGRP抗体またはその断片は、次の非限定的リストの疾患および障害の症状の改善もしくは軽減、またはこれらの疾患および障害の治療もしくは予防に有用である：疼痛、炎症性疼痛、術後の切開疼痛、複合性局所疼痛症候群、癌性疼痛、原発性もしくは転移性骨癌の疼痛、骨折疼痛、慢性疼痛、骨粗鬆症性骨折疼痛、熱傷に起因する疼痛、骨粗鬆症、痛風性関節痛、腹痛、鎌状赤血球発症に伴う疼痛、および他の侵害受容性疼痛、ならびに肝細胞癌、乳

癌、肝硬変、神経原性疼痛、神経因性疼痛、侵害受容性疼痛、三叉神経痛、带状疱疹後神経痛、幻肢痛、線維筋痛症、月経痛、卵巣痛、反射性交感神経性ジストロフィー、神経原性疼痛、骨関節炎痛もしくはリウマチ性関節炎痛、腰痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛、または、胃食道逆流、胃腸障害、過敏性腸症候群、過敏結腸、刺激結腸、粘液結腸炎、炎症性腸疾患、クローン病、回腸炎、潰瘍性大腸炎、腎仙痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、膵炎、腎仙痛、月経困難、間質性膀胱炎（IC）を含む膀胱炎、腸閉塞に関連する外科手術、憩室炎、腹膜炎、心膜炎、肝炎、虫垂炎、大腸炎、胆嚢炎、子宮内膜症、慢性膵炎や急性膵炎に関連する疼痛もしくは臓痛、心筋梗塞、腎臓痛、胸膜痛、前立腺炎、骨盤痛、器官外傷、慢性侵害受容性疼痛、慢性神経因性疼痛、慢性炎症性疼痛、線維筋痛症、突出痛、および持続痛、ならびに、好ましくは腺組織における腺癌、器官の胚組織における芽細胞腫、上皮組織におけるカルシノーマ、血液細胞を形成する組織における白血病、リンパ組織におけるリンパ腫、骨髄における骨髄腫、結合組織もしくは支持組織における肉腫、副腎癌、エイズ関連リンパ腫、貧血、膀胱癌、骨癌、脳癌、乳癌、カルチノイド腫瘍、子宮頸部癌、化学療法、結腸癌、血球減少症、子宮内膜癌、食道癌、胃癌、頭部癌、頸部癌、肝胆道癌、腎臓癌、白血病、肝臓癌、肺癌、リンパ腫、ホジキン病、リンパ腫、非ホジキン病、神経系腫瘍、口腔癌、卵巣癌、膵癌、前立腺癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、精巣癌、甲状腺癌、尿道癌、骨癌、結合組織の肉腫癌、骨組織の癌、造血細胞の癌、骨髄の癌、多発性骨髄腫、白血病、原発性もしくは続発性骨癌、骨に転移する腫瘍、神経および中空臓器に浸潤する腫瘍、神経構造近くの腫瘍のうちの1つ以上から選択される悪性腫瘍もしくは癌から生じる癌性疼痛。さらに好ましくは、癌性疼痛は臓痛を含み、好ましくは、膵癌や腹部への転移から生じる臓痛を含む。さらに好ましくは、癌性疼痛は体性痛を含み、好ましくは、骨癌、骨における転移、手術後の疼痛、結合組織の肉腫癌、骨組織の癌、骨髄の造血細胞の癌、多発性骨髄腫、白血病、原発性もしくは続発性骨癌の1つ以上に起因する体性痛を含む。

10

20

【0434】

本発明の別の実施形態では、第二剤を伴うか伴わない本明細書に記載の抗CGRP抗体またはその断片は、次の非限定的リストの疾患および障害、すなわち、癌もしくは腫瘍、癌もしくは腫瘍の増殖に関連する血管新生、癌もしくは腫瘍の生存に関連する血管新生の症状の改善もしくは軽減、またはこれらの疾患および障害の治療もしくは予防に有用である。

30

【0435】

本発明の別の実施形態では、第二剤を伴うか伴わない本明細書に記載の抗CGRP抗体またはその断片は、次の非限定的リストの疾患および障害、すなわち、神経原性疼痛、神経因性疼痛、または侵害受容性疼痛の改善もしくは軽減、またはこれらの疾患および障害の治療もしくは予防に有用である。神経因性疼痛には、三叉神経痛、带状疱疹後神経痛、幻肢痛、線維筋痛症、月経痛、卵巣痛、反射性交感神経性ジストロフィー、および神経原性疼痛が含まれ得るが、これらに限定されない。他の好適な実施形態では、変形性関節症または関節リウマチの疼痛、腰痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛、および他の神経因性疼痛の症状の改善もしくは軽減、またはこれらの疾患および障害の治療もしくは予防に有用である。

40

【0436】

本発明の別の実施形態では、第二剤を伴うか伴わない本明細書に記載の抗CGRP抗体またはその断片は、次の非限定的リストの疾患および障害、すなわち、過活動膀胱および他の泌尿器状態、胃食道逆流および胃食道逆流に関連する臓痛、胃腸障害、過敏性腸症候群、炎症性腸疾患、クローン病、回腸炎、潰瘍性大腸炎、腎仙痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、掻痒症、または膵炎の症状の改善もしくは軽減、またはこれらの疾患および障害の治療もしくは予防に有用である。また、主題のCGRP抗体および抗体断片は、単独で使用してもよく、あるいは、他の活性薬剤、例えばオピオイド系鎮痛薬、非オピオイド系鎮痛薬（NSAIDなど）と併用してもよく、これにより鎮痛を誘発し、または別の鎮痛薬の効力を増強し、または特定の鎮痛薬（モルヒネもしくは関連

50

のオピオイド系鎮痛薬など)に対する耐性を防止もしくは軽減することができる。CGRP 37およびCGRP受容体アンタゴニスト(BIBN4096BS)がモルヒネ耐性の発達を防止/逆転することが実際に報告されていることが、モルヒネ誘発性鎮痛の発生の遮断/逆転におけるCGRPの役割を示す証拠である(Powell et al., 2000 J Brit J Pharmacol (131):875; Menard et al., 1996 J Neurosci (16):2342; Wang et al., 2009 FASEB J (23):2576; Wang et al., 2010 Pain (151):194)。

【0437】

疼痛管理を増強もしくは強化する目的で、またはオピオイド鎮痛化合物などの鎮痛薬に対する耐性を逆転もしくは抑制する目的で、主題の抗体を、場合によっては、オピオイド系鎮痛薬もしくはNSAIDまたは他の鎮痛薬(可能性として別の抗体であり得る)と組み合わせてもよい。これにより、このような鎮痛化合物をより長期間、またはより低用量で投与することが可能になり、その結果、こうした鎮痛化合物に関連する有害な副作用を軽減できる可能性がある。

【0438】

本明細書で使用する「オピオイド系鎮痛薬」という用語は、モルヒネ様作用を有するすべての天然または合成の薬剤を指す。合成および半合成のオピオイド系鎮痛薬は、5つの化学分類の化合物、すなわちフェナントレン、フェニルヘプチルアミン、フェニルピペリジン、モルフィナン、およびベンゾモルファンの誘導体であり、これらのすべてが、この用語の範囲に含まれる。オピオイド系鎮痛薬の代表例として、コデイン、ジヒドロコデイン、ジアセチルモルフィン、ヒドロコドン、ヒドロモルホン、レボルファノール、オキシモルフォン、アルフェンタニル、ブプレノルフィン、ブトルファノール、フェンタニル、スフェンタニル、メペリジン、メサドン、ナルブフィン、プロボキシフェン、およびペンタゾシン、またはこれらの薬剤的に許容可能な塩が挙げられる。

【0439】

「NSAID」という用語は、非ステロイド性抗炎症化合物を指す。NSAIDはシクロオキシゲナーゼの阻害能力に基づいて分類される。シクロオキシゲナーゼ1とシクロオキシゲナーゼ2がシクロオキシゲナーゼの2大アイソフォームであり、大部分の標準のNSAIDは、この2つのアイソフォームの混合型阻害剤である。大部分の標準のNSAIDは、次の5つの構造分類のいずれか1つに該当する:(1)イブプロフェン、ナプロキセン、ナプロシン、ジクロフェナク、ケトプロフェンなどのプロピオン酸誘導体;(2)トルメチン、スリダクなどの酢酸誘導体;(3)メフェナム酸、メクロフェナム酸などのフェナム酸誘導体;(4)ジフルニサル、フルフェニサル(flufenisal)などのピフェニルカルボン酸誘導体;(5)ピロキシム(piroxim)、スドキシカム(sudoxicam)、イソキシカム(isoxicam)などのオキシカム類。シクロオキシゲナーゼ2を選択的に阻害する別の区分のNSAIDが記載されている。COX 2阻害剤は、例えば米国特許第5,616,601号;第5,604,260号;第5,593,994号;第5,550,142号;第5,536,752号;第5,521,213号;第5,475,995号;第5,639,780号;第5,604,253号;第5,552,422号;第5,510,368号;第5,436,265号;第5,409,944号;および第5,130,311号に記載されている(これらのすべてが、参照によりここに組み込まれる)。COX 2阻害剤のいくつかの代表的な例として、セレコキシブ(SC 58635)、DUP 697、フロスリド(flosulide)(CGP 28238)、メロキシカム、6メトキシ 2ナフチル酢酸(6 MNA)、ロフェコキシブ、MK 966、ナブメトン(6 MNAのプロドラッグ)、ニメスリド、NS 398、SC 5766、SC 58215、T 614、またはこれらの組み合わせが挙げられる。

【0440】

いくつかの実施形態では、主題のCGRP抗体または断片と併せてアスピリンやアセトアミノフェンを摂取してよい。アスピリンは、別の種類の非ステロイド性抗炎症化合物である。

【0441】

10

20

30

40

50

本発明のCGRP抗体を投与することにより治療および/または予防できる代表的な疾患および障害の非限定的例として、神経原性、神経因性、炎症性、熱性、または侵害受容性の疼痛に関連する状態に起因する疼痛が挙げられる。好ましくは、障害は、疼痛部位のCGRP増加と関連する。神経因性疼痛のある実施形態では、好ましくは、言及されている三叉神経痛、帯状疱疹後神経痛、幻肢痛、線維筋痛症、反射性交感神経性ジストロフィー、および神経原性疼痛の状態を治療する。他の実施形態では、好ましくは、癌性疼痛(特に骨癌性疼痛)、骨関節炎痛もしくはリウマチ性関節炎痛、腰痛、術後の切開疼痛、骨折疼痛、骨粗鬆症性骨折疼痛、骨粗鬆症、痛風性関節痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛、鎌状赤血球発症に伴う疼痛、偏頭痛、ならびに他の神経因性疼痛および/または侵害受容性疼痛を治療する。したがって、本発明は、CGRP活性またはCGRPアップレギュレーションに関連する任意の疾患または障害(上記の代表的な疾患、障害、および状態を含む)を、本発明の抗体および抗体断片を用いて治療、予防、および/または改善する方法を含む。本発明の治療方法は、本明細書に開示する抗CGRP抗体を含む任意の製剤を、単独で、または別の活性薬剤と組み合わせて対象に投与することを含む。

10

【0442】

この医薬製剤の投与対象は、例えば、このような治療、予防、および/または改善を必要としている、あるいはCGRP介在性の活性を阻害または減弱することにより他の恩恵を得る、任意のヒトおよびヒト以外の動物であり得る。例えば、対象は、上記の疾患または障害のいずれかと診断された任意の個体、または上記の疾患または障害を患う危険性があるとみなされる任意の個体であり得る。本発明はさらに、CGRP活性に関連する任意の疾患または障害(上記の代表的な疾患、障害、および状態を含む)を治療、予防、および/または改善するための薬剤の製造における、本明細書に開示される医薬製剤の使用を含む。

20

【0443】

投与

本発明の1つの実施形態では、本明細書に記載の抗CGRP抗体またはそのCGRP結合断片、あるいはこれらの抗体または抗体断片の組み合わせを、対象レシピエントの体重1kgあたり約0.1~100.0mgの濃度で対象に投与する。本発明の好適な1つの実施形態では、本明細書に記載の抗CGRP抗体またはそのCGRP結合断片、あるいはこれらの抗体または抗体断片の組み合わせを、対象レシピエントの体重1kgあたり約0.4mgの濃度で対象に投与する。本発明の好適な1つの実施形態では、本明細書に記載の抗CGRP抗体またはそのCGRP結合断片、あるいはこれらの抗体または抗体断片の組み合わせを、26週間に1回またはそれより低い頻度、例えば16週間に1回またはそれより低い頻度、8週間に1回またはそれより低い頻度、4週間に1回またはそれより低い頻度、2週間に1回またはそれより低い頻度、1週間に1回またはそれより低い頻度、または1日に1回またはそれより低い頻度で、対象レシピエントに投与する。

30

【0444】

Fab断片の投与は、2週間に1回またはそれより低い頻度、1週間に1回またはそれより低い頻度、1日に1回またはそれより低い頻度、1日に複数回、および/または数時間ごとに行ってよい。患者は、1日あたり0.1mg/kg~40mg/kgのFab断片を、1日1~6回の分割量で、または所望の結果を得るのに有効な徐放形態で投与される。

40

【0445】

所与の患者に投与する抗体またはFabの濃度は、上記の段落[0437]および[0438]に記載の代表的な投与濃度より高いか低い場合があることを理解すべきである。

【0446】

当業者であれば、日常の実験を通じて、例えば本発明の開示内容およびGoodman, L. S., Gilman, A., Brunton, L. L., Lazo, J. S., & Parker, K. L. (2006). Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. New York: McGraw-Hill, Howland, R. D., Mycek, M. J., Harvey, R. A., Champe, P. C., & Mycek, M. J. (2006). Pharmacology. Lippincott's illustrated reviews. Philadelphia: Lippincott Williams &

50

Wilkins、および Golan, D. E. (2008). Principles of pharmacology: the pathophysiologic basis of drug therapy. Philadelphia, Pa., [etc.]: Lippincott Williams & Wilkinsの教示内容の手引に従って、投与の効果量および頻度を決定できるであろう。

【 0 4 4 7 】

本発明の別の実施形態では、本明細書に記載の抗 C G R P 抗体またはその C G R P 結合断片、あるいはこれらの抗体または抗体断片の組み合わせを、医薬製剤の形で対象に投与する。

【 0 4 4 8 】

「医薬組成物」とは、哺乳動物への投与に適した化学組成物または生物組成物を指す。このような医薬組成物は、例えば頬、皮膚上、硬膜外、吸引、動脈内、心臓内、脳室内、皮内、筋肉内、鼻腔内、眼内、腹腔内、脊髄内、髄腔内、静脈内、経口、非経口、浣腸または坐剤による直腸内、皮下、真皮下、舌下、経皮、および経粘膜を含む（これらに限定されない）多数の経路のうちの1つ以上を介する投与用として、特異的に製剤化することができる。加えて、投与は注射剤、粉末、液体、ゲル、液滴、または他の投与手段により行うことができる。

【 0 4 4 9 】

本発明の1つの実施形態では、本明細書に記載の抗 C G R P 抗体またはその C G R P 結合断片、あるいはこれらの抗体または抗体断片の組み合わせを、随意に1つ以上の活性薬剤と組み合わせて投与してもよい。このような活性薬剤の例として、鎮痛剤、抗ヒスタミン剤、解熱剤、抗炎症剤、抗生物質製剤、抗ウイルス剤、および抗サイトカイン剤が挙げられる。活性薬剤の例には、T N F、I L 2、I L 4、I L 6、I L 10、I L 12、I L 13、I L 18、I F N、I F N、B A F F、C X C L 13、I P 10、V E G F、E P O、E G F、H R G、肝細胞増殖因子（H G F）、ヘプシジンのアゴニスト、アンタゴニスト、および調節物質が含まれ、これらの物質には、これらの物質のいずれかに反応する抗体、およびこれらの物質の受容体のいずれかに反応する抗体が含まれる。また、活性薬剤の例には、2 アリールプロピオン酸類、アセクロフェナク、アセメタシン、アセチルサリチル酸（アスピリン）、アルクロフェナク、アルミノプロフェン、アモキシブリン（Amoxiprin）、アンピロン、アリールアルカン酸類、アザプロパゾン、ベノリラート、ベノキサプロフェン、ブロムフェナク、カルプロフェン、セレコキシブ、サリチル酸コリンマグネシウム、クロフェゾン、C O X 2 阻害剤、デクスイブプロフェン、デクスケトプロフェン、ジクロフェナク、ジフルニサル、ドロキシカム、エテンザミド、エトドラク、エトリコキシブ、ファイスルアミン（Faislamine）、フェナム酸類、フェンブフェン、フェノプロフェン、フルフェナム酸、フルノキサプロフェン、フルルビプロフェン、イブプロフェン、イブプロキサム、インドメタシン、インドプロフェン、ケブゾン、ケトプロフェン、ケトロラク、ロルノキシカム、ロキソプロフェン、ルミラコキシブ、サリチル酸マグネシウム、メクロフェナム酸、メフェナム酸、メロキシカム、メタミゾール、サリチル酸メチル、モフェブタゾン、ナブメトン、ナプロキセン、N アリールアントラニル酸類、神経成長因子（N G F）、オキサメタシン、オキサプロジン、オキシカム類、オキシフェンブタゾン、パレコキシブ、フェナゾン、フェニルブタゾン、フェニルブタゾン、ピロキシカム、ピルプロフェン、プロフェン類、プログルメタシン、ピラゾリジン誘導体、ロフェコキシブ、サリチルサリチル酸、サリチルアミド、サリチル酸類、サブスタンス P、スルフィンピラゾン、スリンダク、スプロフェン、テノキシカム、チアプロフェン酸、トルフェナム酸、トルメチン、およびバルデコキシブが含まれるが、これらに限定されない。

【 0 4 5 0 】

抗ヒスタミン剤は、ヒスタミンの作用に対抗する、または細胞（例えばマスト細胞）からのヒスタミンの放出に対抗する任意の化合物であり得る。抗ヒスタミン剤の例には、アクリバスチン、アステミゾール、アザタジン、アゼラスチン、ベータタスチン（betatastine）、ブロムフェニラミン、ブクリジン、セチリジン、セチリジン類似体、クロルフェニラミン、クレマスチン、C S 5 6 0、シプロヘブタジン、デスロラタジン、デスクロ

10

20

30

40

50

ルフェニラミン、エバスチン、エピナスチン、フェキソフェナジン、HSR609、ヒドロキシジン、レボカバステチン、ロラチジン、メトスコポラミン、ミゾラスチン、ノルアステミゾール、フェニダミン、プロメタジン、ピリラミン、テルフェナジン、およびトラニラストが含まれるが、これらに限定されない。

【0451】

抗生物質の例には、アミカシン、アミノグリコシド類、アモキシシリン、アンピシリン、アンサマイシン類、アルスフェナミン、アジスロマイシン、アズロシリン、アズトレオナム、バシトラシン、カルバセフェム、カルバペネム類、カルベニシリン、セファクロール、セファドロキシル、セファレキシン、セファロチン (Cefalothi)、セファロチン (Cefalotin)、セファマンドール、セファゾリン、セフジニル、セフジトレン、セフェピム、セフィキシム、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフォキシチン、セフポドキシム、セフプロジル、セフタジジム、セフチブテン、セフチゾキシム、セフトビプロール、セフトリアキソン、セフロキシム、セファロスポリン類、クロラムフェニコール、シラスタチン、シプロフロキサシン、クラリスロマイシン、クリンダマイシン、クロキサシリン、コリスチン、コトリモキサゾール、ダルホプリスチン、デメクロサイクリン、ジクロキサシリン、ジリスロマイシン、ドリペネム、ドキシサイクリン、エノキサシン、エルタペネム、エリスロマイシン、エタンブトール、フルクロキサシリン、ホスホマイシン、フラゾリドン、フシジン酸、ガチフロキサシン、ゲルダナマイシン、ゲンタマイシン、グリコペプチド類、ハービマイシン、イミペネム、イソニアジド、カナマイシン、レボフロキサシン、リンコマイシン、リネゾリド、ロメフロキサシン、ロラカルベフ、マクロライド類、マフェニド、メロペネム、メチシリン、メトロニダゾール、メズロシリン、ミノサイクリン、モノバクタム類、モキシフロキサシン、ムピロシン、ナフシリン、ネオマイシン、ネチルマイシン、ニトロフラントイン、ノルフロキサシン、オフロキサシン、オキサシリン、オキシテトラサイクリン、パロモマイシン、ペニシリン、ペニシリン類、ピペラシリン、プラテンシマイシン、ポリミキシンB、ポリペプチド類、プロントジル、ピラジナミド、キノロン類、キヌプリスチン、リファンピシン、リファンピン、ロキシスロマイシン、スペクチノマイシン、ストレプトマイシン、スルファセタミド、スルファメチゾール、スルファニルイミド、スルファサラジン、スルフイソキサゾール、スルホンアミド類、テイコプラニン、テリスロマイシン、テトラサイクリン、テトラサイクリン類、チカルシリン、チニダゾール、トブラマイシン、トリメトプリム、トリメトプリムスルファメトキサゾール、トロレアンドマイシン、トロバフロキサシン、およびバンコマイシンが含まれるが、これらに限定されない。

【0452】

また、活性薬剤の例には、アルドステロン、ベクロメタゾン、ベタメタゾン、副腎皮質ステロイド剤、コルチゾール、酢酸コルチゾン、酢酸デオキシコルチコステロン、デキサメタゾン、酢酸フルドロコルチゾン、グルココルチコイド類、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、プレドニゾン、ステロイド剤、およびトリアムシロンも含まれる。これらの活性薬剤の任意の適切な組み合わせも企図されている。

【0453】

「医薬賦形剤」あるいは「薬剤的に許容可能な賦形剤」とは、通常は液体の担体であり、この担体中に活性治療薬が製剤化される。本発明の1つの実施形態では、活性治療薬剤は、本明細書に記載のヒト化抗体、またはその1つ以上の断片である。一般に、賦形剤は、製剤に対して何ら薬理的活性を与えないが、化学的および/または生物学的な安定性および放出特性を提供し得る。代表的な製剤形態は、例えばRemington's Pharmaceutical Sciences, 第19版, Grennaro, A. 編, 1995に記載されている(この文献は参照により組み込まれる)。

【0454】

本明細書で使用する「薬剤的に許容可能な担体」あるいは「賦形剤」という語は、生理学的に適合するあらゆる溶媒、分散媒、皮膜剤、抗菌および抗真菌剤、等張および吸収遅延剤を含む。1つの実施形態では、担体は非経口投与に適している。あるいは、担体は、

10

20

30

40

50

静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、または舌下投与に適し得る。薬剤的に許容可能な担体には、無菌の水溶液または分散剤、および無菌の注射剤または分散剤を即時調製するための無菌粉末が含まれる。薬剤的活性物質にこのような媒体や薬剤を用いることは、当技術分野でよく知られている。従来の媒体や薬剤が活性化合物と適合しない場合を除き、本発明の医薬組成物において従来の媒体や薬剤を使用することが企図されている。補助的な活性化合物を組成物に組み込んでもよい。

【0455】

通常、医薬組成物は、製造および保管の条件下で無菌かつ安定でなければならない。本発明は、医薬組成物が凍結乾燥した形態で存在することを企図している。本組成物は、溶液、マイクロエマルジョン、リボソーム、または高薬物濃度に適した他の秩序構造の形で製剤化することができる。担体は、例えば水、エタノール、ポリオール（例えばグリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコール）、およびこれらの適切な混合物を含有した溶媒または分散媒であってよい。本発明はさらに、医薬組成物中に安定剤を含めることを企図している。例えば、分散剤の場合には必要な粒径を維持することにより、かつ界面活性剤を使用することにより、適切な流動性を維持することができる。

10

【0456】

多くの場合、組成物中に糖類、多価アルコール（マンニトール、ソルビトールなど）、塩化ナトリウムなどの等張剤を含めることが好ましい。注射用組成物は、一ステアリン酸塩およびゼラチンなどの吸収を遅らせる薬剤を組成物に含めることにより、吸収を持続させることができる。さらに、アルカリ性ポリペプチドは、例えば持続放出ポリマーを含む組成物の徐放製剤の形で製剤化することができる。活性化合物は、放出制御製剤（植込物およびマイクロカプセル化送達システムを含む）などの、急速な放出から化合物を保護する担体を用いて調製することができる。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、ポリ乳酸、およびポリ乳酸・ポリグリコール酸コポリマー（PLG）などの、生物分解性の生体適合性ポリマーを使用できる。このような製剤の多くの調製方法が、当業者に知られている。

20

【0457】

列記されている実施形態の各々について、様々な剤形で化合物を投与することができる。当業者に知られている任意の生物学的に許容可能な剤形およびその組み合わせが企図されている。このような剤形の例として、再構成可能な散剤、エリキシル剤、液剤、溶剤、懸濁液、乳剤、散剤、顆粒剤、粒子、微小粒子、分散性顆粒剤、カシェ、吸入剤、エアロゾル吸入剤、パッチ、粒子吸入剤、インプラント、デポーインプラント、注射剤（皮下、筋肉内、静脈内、皮内を含む）、注入液、およびこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0458】

本発明の上記に例示する各種実施形態の説明は、網羅的であるという意図はなく、本発明を精密な開示形態に限定する意図もない。本発明の具体的な実施形態および実施例は、例示目的で本明細書に記載されているが、種々の同などの修正は、当業者が認識する通り本発明の範囲内で可能である。本明細書で提供する本発明の教示内容を、上記の例以外の他の目的に適用することができる。

40

【0459】

上記の詳細説明に鑑みて、これらの変更および他の変更を本発明に加えることができる。概して、以下の請求項で使用される用語は、本明細書および請求項で開示される具体的な実施形態に本発明を限定するものと解釈すべきではない。したがって、本発明は本開示に限定されるのではなく、本発明の範囲は、以下の請求項によって全面的に決定されるものである。

【0460】

本発明は、上記の説明および実施例に具体的に記載されている方法以外の方法で実施できる。上記の教示内容に鑑みて、本発明の多くの修正および変更が可能であり、よってこ

50

これらの修正および変更は、付属の請求項の範囲に入る。

【0461】

抗原特異的B細胞のクローン集団を取得する方法に関連するある特定の教示事項が、2006年5月19日に出版された米国仮特許出願第60/801,412号に開示されており、その開示内容の全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0462】

ウサギ由来モノクローナル抗体のヒト化、および抗原結合親和性を維持するための好ましい配列修飾に関連するある特定の教示事項が、国際出願PCT/US2008/064421号(2008年5月21日に出版され名称「Novel Rabbit Antibody Humanization Methods and Humanized Rabbit Antibodies」の国際公開第2008/144757号に
10 対応)に開示されており、その開示内容の全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0463】

接合可能酵母を用いた抗体またはその断片の生産に関連するある特定の教示事項、および対応する方法が、2006年5月8日に出版された米国特許出願第11/429,053号(米国特許出願公開第2006/0270045号)に開示されており、その開示内容の全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0464】

ある特定のCGRP抗体ポリヌクレオチドおよびポリペプチドが本特許出願に添付の配列表で開示されており、この配列表の開示内容の全体が、参照により本明細書に組み込まれる。
20

【0465】

発明の背景、詳細な説明、および実施例で引用している各文書(特許、特許出願、論文、抄録、マニュアル、書籍、その他の開示物を含む)の全開示内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0466】

以下の実施例は、主題の発明の作成方法および使用方法の完全な開示と説明を当業者に提供するために提示するものであり、本発明とみなされるものの範囲を限定することは意図していない。使用する数字(例えば量、温度、濃度など)に関して正確を期すよう努力を払ったが、いくらかの実験誤差および偏差は許容されるべきである。別段の指示がない限り、割合は重量部であり、分子量は平均分子量であり、温度は摂氏度単位であり、圧力は大気圧時または近大気圧時の圧力である。
30

【実施例】

【0467】

実施例1 CGRPに結合する抗体の調製

本明細書に記載の抗体選択プロトコルを使用することにより、広範な抗体パネルを作製することができる。

【0468】

免疫戦略

ウサギをヒトCGRP(アメリカンペプタイド社、カリフォルニア州サニーベール、およびバイケム(Bachem)社、カリフォルニア州トランス)で免疫した。免疫化は初回の注射と後続の2回のブースト(追加免疫)からなり、初回の注射は、完全フロイントアジュバント(CFA)(シグマ社)中100μgのKLHと混合した100μgの抗原を皮下(sc)注射し、後続の2回のブーストは2週間の間隔を空け、それぞれ、不完全フロイントアジュバント(IFA)(シグマ社)中50μgと混合した50μgの抗原を含有していた。55日目に動物の血液を抜き取り、ELISA(抗原認識)、およびSKIN MC中でCGRPに誘起されるcAMP増加の阻害により、血清力価を測定した。
40

【0469】

抗体選択力価の評価

ヒトCGRPと結合する抗体を特定し特性評価するため、抗体を含有する溶液をELISAで試験した。手短に述べると、ニュートラアビジンがコーティングされたプレート
50

(サーモサイエンティフィック社)に、室温で約1時間、または4で一晩かけて、E L I S A緩衝液(P B S中0.5%の魚皮ゼラチン、p H 7.3)中に希釈されたN末端ビオチン化ヒトC G R P (1ウェルあたり50 μ L、1 μ g / m L)をコーティングした。次に、室温でプレートをE L I S A緩衝液でさらに1時間ブロッキングしてから、洗浄緩衝液(P B S、0.05%ツイーン20)で洗浄した。E L I S A緩衝液を用いて、試験対象の血清試料を段階希釈した。希釈した血清試料50 μ Lをウェルに移し、室温で1時間インキュベートした。このインキュベートの後、プレートを洗浄緩衝液で洗浄した。現像のため、抗ウサギ特異的F c H A R P (E L I S A緩衝液で1:5000に希釈)をウェルに添加し、室温で45分間インキュベートした。洗浄液を用いた洗浄ステップを3回行った後、T M B基質を使用して室温で2分間プレートを現像し、0.5 MのH C l

10

【0470】

機能活性による血清試料の力価測定(C G R P誘発性c A M Pレベルの阻害)

機能活性を有する抗体を特定し特性評価するため、電気化学発光(メソスケールディスクバリー、M S D社)を使用してC G R P誘発性c A M Pレベル上昇の阻害アッセイを実施した。手短に述べると、96ウェルの丸底ポリスチレンプレート(コースター)において、試験対象の抗体調製物をM S Dアッセイ緩衝液(H e p e s、M g C l 2、p H 7.3、1 m g / m LブロッカーA、メソスケールディスクバリー)で段階希釈した。このプレートに、M S Dアッセイ緩衝液で希釈したヒトC G R P を添加し(最終濃度10 n g / m L)、37で1時間インキュベートした。アッセイキット製造者の推奨に従って、適切な対照を使用した。E D T A溶液(P B S中5 m M)を用いてヒト神経上皮腫細胞(S K N M C、A T C C)を剥離し、増殖培地(M E M、10%F B S、抗生剤)を用いて遠心分離により洗浄した。細胞数をアッセイ緩衝液1 m Lあたり200万に調整し、I B M X(3イソブチル1メチルキサンチン、シグマ)を添加して、細胞をc A M Pアッセイプレートにセットする直前の最終濃度を0.2 m Mにした。抗体ヒトC G R P溶液を1時間インキュベートした後、細胞を含有する溶液20 μ Lをc A M Pアッセイプレートに移した。すべての試験試料を、適切な対照を用いて2回繰り返し試験した。10 μ Lの細胞をウェルに添加し、プレートを室温で30分間、振盪しながらインキュベートした。細胞をC G R P溶液と共にインキュベートする間に、溶解緩衝液(M S D)中1:200のT A G標識c A M P溶液を作製することにより停止液を調製した。細胞C G R Pインキュベーションを停止するため、20 μ Lの停止液を細胞に添加し、プレートを室温で1時間、振盪しながらインキュベートした。読み取り緩衝液(M S D)を水で4倍に希釈し、100 μ Lをプレート上のすべてのウェルに添加した。次に、S e c t o r I m a g e r 2400(M S D)を用いてプレートを読み取り、P r i s mソフトウェアを用いてデータを当てはめ、I C 50値を決定した。

20

30

【0471】

組織の回収

許容できる力価が確立した後、ウサギを殺処分した。脾臓、リンパ節、および全血を回収し、以下の通りに処理した。

【0472】

組織を分離し、20 c cシリンジのプランジャーを用いて70 μ mの滅菌ワイヤーメッシュ(フィッシャー)に通すことにより、脾臓およびリンパ節を処理して単個細胞浮遊液にした。細胞をP B S中に回収した。細胞を遠心分離により2回洗浄した。最後の洗浄の後、トリパンブルーにより細胞密度を測定した。細胞を1500 r p mで10分間遠心分離し、上清を廃棄した。F B S(ハイクロン)中の適量の10%ジメチルスルホキシド(D M S O、シグマ)中に細胞を再懸濁して、1 m l / バイアルで分注した。バイアルを緩慢凍結チャンバーに入れて-70で24時間保存してから、液体窒素中に保存した。

40

【0473】

F B Sを含まない等割合の上記の低グルコース培地と全血を混合することにより、末梢血単核球(P B M C)を単離した。8 m lのL y m p h o l y t e R a b b i t(シダ

50

ーレーン)の上に35mlの全血混合物を注意深く層状に重ねて45mlの円錐管(コーニング)に入れ、室温で30分間、休止なしに2500rpmで遠心分離した。遠心分離の後、ガラス製パストールピペット(VWR)を使ってPBMC層を慎重に取り除き、合わせて、清浄な50mlバイアルに注いだ。室温で10分間、1500rpmで遠心分離することにより、上記の改変培地と共に細胞を2回洗浄し、トリパンブルー染色により細胞密度を測定した。最後の洗浄の後、適量の10%DMSO/FBS培地中に細胞を再懸濁させ、上記のように凍結させた。

【0474】

B細胞の選択、濃縮、および培養条件

B細胞培養を準備する日に、PBMC、脾細胞、またはリンパ節のバイアルを解凍して使用できるようにした。LN2タンクからバイアルを取り出し、37℃の水浴中に入れて解凍させた。バイアルの内容物を15mlの円錐遠心分離管(コーニング)に移し、10mlの上記改変RPMIをこの管に徐々に添加した。細胞を2KRPMで5分間遠心分離して、上清を廃棄した。細胞を10mlの新しい培地中で再懸濁した。トリパンブルーにより細胞密度および生存率を測定した。

【0475】

a)以下のプロトコルをAb1およびAb13に使用した:

細胞を、次のようにビオチン化ヒトCGRPと予め混合した。細胞を再度洗浄し、1E07細胞/80μL培養液で再懸濁した。ビオチン化ヒトCGRPを、5μg/mLの最終濃度で細胞懸濁液に添加し、4℃で30分間インキュベートした。結合していないビオチン化ヒトCGRPを、10mlのPBF[Ca/Mgを含まないPBS(ハイクロン)、2mMのエチレンジアミン四酢酸(EDTA)、0.5%ウシ血清アルブミン(BSA)(シグマ ビオチンフリー)]で2回洗浄して除去した。2回目の洗浄の後、細胞を1E07細胞/80μLのPBFで再懸濁し、20μLのMACS(登録商標)ストレプトアビジンビーズ(ミルテニーバイオテック、カリフォルニア州オーバーン)/1E7細胞を、細胞懸濁液に添加した。細胞およびビーズを4℃で15分間インキュベートし、1E7細胞あたり2mlのPBFで1回洗浄した。

【0476】

b)以下のプロトコルをAb4、Ab7、Ab9、およびAb11に使用した:

ビオチン化ヒトCGRPを、次のように予めストレプトアビジンビーズに添加した。75μLのストレプトアビジンビーズ(ミルテニーバイオテック、カリフォルニア州オーバーン)を、N末端をビオチン化したhCGRPと混合し(最終濃度10μg/mL)、300μLのPBFと混合した。この混合物を4℃で30分間インキュベートし、MACS(登録商標)分離カラム(ミルテニーバイオテック)を使用して未結合のビオチン化ヒトCGRPを除去し、1mlのすすぎ液を用いて未結合物質を除去した。次に物質を押し出し、この物質を使用して、上記から得た細胞を1E7細胞あたり100μL中で再懸濁し、次いで混合物を4℃で30分間インキュベートし、10mlのPBFで1回洗浄した。

【0477】

a)、b)両方のプロトコルに以下を適用した。洗浄後、細胞を500μLのPBF中で再懸濁して、そのまま残しておいた。MACS(登録商標)MSCカラム(ミルテニーバイオテック、カリフォルニア州オーバーン)を、磁気スタンド(ミルテニー)上で500mlのPBFで予めすすいだ。細胞懸濁液を、プレフィルターを通してカラムにかけ、未結合画分を回収した。2.5mlのPBF緩衝液でカラムを洗浄した。カラムを磁気スタンドから外して、清浄な無菌の1.5mlエッペンドルフチューブに入れた。1mlのPBF緩衝液をカラムの上部に添加し、陽性の選択された細胞を回収した。トリパンブルー染色により、陽性の細胞画分の収率と生存率を測定した。陽性選択により、平均1%の初期細胞濃度が得られた。

【0478】

予備的な細胞スクリーニングを確立し、培養物の播種レベルに関する情報を得た。プレ

10

20

30

40

50

ートに、1 ウェルあたり濃縮 B 細胞数 10、25、50、100、または 200 の割合で播種した。加えて、各ウェルは、高グルコース改変 RPMI 培地中に 50 K 個の細胞 / ウェルの照射 EL-4 B5 細胞 (5,000 ラド) および適切なレベルの活性化ウサギ T 細胞上清 (米国特許出願公開第 2007026986 号を参照) (調製に応じて 1 ~ 5 % の範囲) を含有し、最終体積は 250 μ l / ウェルであった。培養物を、37、4 % CO₂ 中で 5 ~ 7 日間インキュベートした。

【0479】

抗原認識 (ELISA) による B 細胞培養物のスクリーニング

抗ヒト CGRP 抗体を生産しているウェルを特定するため、抗原認識 (ELISA) による血清試料の力価測定で記述したプロトコルに下記の変更を加えたプロトコルを使用した。手短に述べると、ニュートラアビジンがコーティングされたプレートに、N 末端、C 末端がそれぞれビオチン化されたヒト CGRP の混合物をコーティングした (1 ウェルあたり 50 μ l、各 1 μ g / ml)。B 細胞上清試料 (50 μ l) を、事前に希釈せずに試験した。

【0480】

CGRP 誘発性 cAMP 産生を用いた、B 細胞上清中の機能活性の特定

B 細胞上清に含まれる機能活性を測定するため、血清試料の機能的力価の測定で記述した類似の手順に下記の修正を加えた手順を使用した。手短に述べると、希釈したポリクローナル血清試料の代わりに、B 細胞上清 (20 μ l) を使用した。

【0481】

抗原に特異的な B 細胞の単離

対象のウェルの入ったプレートを -70 から取り出し、1 ウェルあたり 200 μ l の培養液 (10 % 完全 RPMI、55 μ M BME) の 5 回の洗浄により各ウェルから細胞を回収した。回収した細胞を遠心分離によりペレット状にして、上清を慎重に除去した。ペレット状にした細胞を、100 μ l の培養液中に再懸濁した。抗体を発現する細胞を特定するため、ストレプトアビジンがコーティングされた磁気ビーズ (M280 ダイナビーズ、インビトロジェン) に、N 末端と C 末端がビオチン化されたヒト CGRP の組み合わせをコーティングした。個々にビオチン化されたヒト CGRP のロットを、段階希釈により最適化した。次に、約 4×10^7 のコーティング済みビーズの入った 100 μ l と、再懸濁後の細胞とを混合した。この混合物に、培地中に 1 : 100 で希釈した 15 μ l のヤギ抗ウサギ H & L IgG FITC (ジャクソンイムノリサーチ) を添加した。

【0482】

20 μ l の細胞 / ビーズ / 抗ウサギ H & L 懸濁液を取り出し、事前に計 35 ~ 40 液滴 / スライドの Sigma cot (シグマ) で処理した 1 ウェルのガラススライドに、5 μ l の液滴を分注した。パラフィン油の不浸透性バリア (JT ベーカー) を使って液滴を浸漬させ、4 % CO₂ インキュベーター内の暗条件下で、37 で 90 分間スライドをインキュベートした。

【0483】

抗体分泌により周囲に生成される蛍光リング、ビーズと結合したビオチン化抗原の認識、および、それに続く蛍光 IgG 検出試薬による検出により、抗体を生産する特異的 B 細胞を特定することができる。対象の細胞を特定すると、マイクロマニピュレーター (エッペンドルフ) を用いて回収した。抗体を合成し搬出する単一細胞を微小遠心管に移し、ドライアイスを用いて凍結し、-70 で保存した。

【0484】

抗原特異的 B 細胞に由来する抗体の配列の増幅および配列決定

RT-PCR をベースにした方法の組み合わせにより、単離した単一 B 細胞から抗体配列を復元した。制限酵素を含むプライマーを、ウサギ免疫グロブリン配列などの標的免疫グロブリン遺伝子の保存領域と定常領域 (重鎖と軽鎖) においてアニールするように設計し、2 段階のネステッド PCR 復元を用いて抗体配列を増幅した。各ウェルから得た単位複製配列の復元とサイズ完全性を分析した。次に、得られた断片を AluI で消化して、

10

20

30

40

50

配列クローン性の指紋（明確な特徴）を得る。複数の同一配列が、それぞれの電気泳動分析において共通の断片化パターンを示した。次に、PCRプライマー内に含まれる制限酵素部位を用いて、元の重鎖と軽鎖の単位複製配列断片を消化し、クローニングして発現ベクターにした。サブクローニングされたDNA断片を含むベクターを増幅し精製した。発現の前に、サブクローニングされた重鎖と軽鎖の配列を確認した。

【0485】

所望の抗原特異性および／または機能特性を持つモノクローナル抗体の組換え生産

特異的B細胞から回収した抗体の抗原特異性と機能特性を判定するため、所望される対の重鎖と軽鎖の配列の発現を誘発するベクターを、HEK 293細胞に形質移入した。

【0486】

ELISAによる組換え抗体の抗原認識

組換え発現抗体のヒトCGRPとの結合能力を特性評価するため、抗体を含有する溶液をELISAで試験した。どのインキュベーションも室温で行った。手短に述べると、Immulon IVプレート（サーモサイエンティフィック）に、CGRPを含有する溶液（PBS中1 μ t/mL）を2時間かけてコーティングした。次に、CGRPをコーティングしたプレートを洗浄緩衝液（PBS、0.05%ツイーン20）で3回洗浄した。次に、ブロッキング溶液（PBS、0.5%魚皮ゼラチン、0.05%ツイーン20）を用いてプレートを約1時間ブロッキングした。次に、ブロッキング溶液を除去してから、プレートを約1時間、希釈系列の抗体と共にインキュベートした。このインキュベーションの終わりにプレートを洗浄緩衝液で3回洗浄し、さらに、二次抗体（ペルオキシダーゼ結合Affinipure F(ab')₂断片ヤギ抗ヒトIgG、Fc断片特異的（ジャクソンイムノリサーチ））を含有する溶液と共に約45分間インキュベートして、3回洗浄した。この時点で基質溶液（TMBペルオキシダーゼ基質、BioFex）を加え、暗所で3～5分間インキュベートした。HCl含有溶液（0.5M）を加えて反応を停止させ、プレートリーダーにおいて450nmでプレートを読み取った。

【0487】

結果：図15～18は、抗CGRP抗体Ab1～Ab14がCGRPと結合しCGRPを認識することを示す。

【0488】

CGRP誘発性細胞内cAMPレベルの調節およびラットとの交差反応による、組換え抗体の機能特性評価

CGRP媒介性のcAMP細胞レベル上昇を阻害する組換え発現抗体の能力を特性評価するため、電気化学発光アッセイキット（メソスケールディスカバリー、MSD）を使用した。手短に述べると、96ウェルの丸底ポリスチレンプレート（コースター）において、試験対象の抗体調製物をMSDアッセイ緩衝液（Hepes、MgCl₂、pH7.3、1mg/mLブロッカーA、メソスケールディスカバリー）で段階希釈した。このプレートに、MSDアッセイ緩衝液で希釈したヒトCGRPを添加し（最終濃度25ng/mL）、37℃で1時間インキュベートした。アッセイキット製造者の推奨に従って、適切な対照を使用した。EDTA溶液（5mM）を用いてヒト神経上皮腫細胞（SK-N-MC、ATCC）を剥離し、増殖培地（MEM、10%FBS、抗生剤）を用いて遠心分離により洗浄した。細胞数をアッセイ緩衝液1mLあたり200万に調整し、IBMX（3-イソブチル-1-メチルキサンチン、50mMシグマ）を添加して、細胞をcAMPアッセイプレートにセットする直前の最終濃度を0.2mMにした。抗体ヒトCGRP

溶液を1時間インキュベートした後、細胞を含有する溶液20 μ LをcAMPアッセイプレートに移した。すべての試験試料を、適切な対照を用いて2回繰り返し試験した。細胞10 μ Lをウェルに添加し、プレートを30分間、振盪しながらインキュベートした。細胞をCGRP溶液と共にインキュベートする間に、溶解緩衝液（MSD）中1:200のTAG標識cAMP溶液を作製することにより停止液を調製した。細胞CGRPインキュベーションを停止するため、停止液20 μ Lを細胞に添加し、プレートを1時間、振盪しながらインキュベートした。読み取り緩衝液（MSD）を水で4倍に希釈し、100

10

20

30

40

50

μLをプレート上のすべてのウェルに添加した。次に、Sector Imager 2400 (MSD)を用いてプレートを読み取り、Prismソフトウェアを用いてデータを当てはめ、IC50値を決定した。

【0489】

組換え抗体がヒトCGRPに拮抗する能力を試験するため、CGRPアゴニストに置き換えて類似のアッセイを実施した(CGRP 最終濃度10 ng/mL)。ラットCGRP(最終濃度5 ng/mL)およびラットL6細胞株(ATCC)を使用して、ラットCGRP媒介性cAMP生成に対する組換え抗体の認識および阻害を評価した。

【0490】

結果：図19～37は、抗CGRP抗体Ab1～Ab14が、CGRP、CGRP、およびラットCGRP媒介性のcAMP細胞レベル上昇を阻害することを示す。

10

【0491】

実施例2 酵素によるFab断片生産

固定化パイン(サーモ/ピラス)を使用して、製造者の指示に従ってパイン分解を行った。手短に述べると、精製抗体をシステイン/HCl含有緩衝液に入れて、穏やかに揺らしながら、固定化パインと共に37でインキュベートした。一定分量を採取しSDS PAGEで重鎖の切断を分析することにより、分解をモニタリングした。反応を停止させるため、固定化パインを遠心分離で除去し、50 mMトリス pH7.5で洗浄し、濾過した。Mab Select Sure (GE)カラムを用いて、未分解の全長抗体およびFc断片を除去した。

20

【0492】

実施例3 酵母細胞発現

重鎖と軽鎖を発現するピキア・パストリス発現ベクターの構築

ヒト化軽鎖および重鎖の断片は、商業的に合成されpGAP発現ベクターにサブクローニングされている。pGAP発現ベクターでは、GAPプロモーターを用いて免疫グロブリン鎖の発現を誘発し、ヒト血清アルブミン(HSA)リーダー配列を用いて搬出する。加えて、このベクターは、細菌の複製起点や、P.パストリスにおいて抗生物質G418への耐性を与えるカナマイシン耐性遺伝子のコピーなどの一般の要素を含む。G418は、ゲノムに組み込まれた所望の発現ベクターを含む細胞株を選択する手段となる。

【0493】

発現ベクターからピキア・パストリスの一倍体met1およびlys3宿主株への形質転換

30

一倍体P.パストリス株の形質転換およびP.パストリス性周期の操作に使用したすべての方法は、Pichia Protocols (Methods in Molecular Biology Higgings, DR, and Gregg, JM, Eds. 1998. Humana Press, Totowa, NJ)に記載の通りである。形質転換の前に、各ベクターをGAPプロモーター配列内で直線化して、P.パストリスゲノムのGAPプロモーター座へのベクターの組み込みを導いた。エレクトロポレーションを用いて一倍体株を形質移入し、有効な形質転換体をYPD (酵母エキス、ソルビトール含有ペプトンデキストロース) G418寒天プレート上で選択した。サザンブロット分析により、一倍体株の重鎖遺伝子と軽鎖遺伝子のコピー数を測定した。次に、一倍体株を接合させ、アミノ酸マーカー(すなわちLysとMet)の不存在下での増殖能力に関して選択した。次に、得られた二倍体クローンを最終サザンブロットに供し、重鎖遺伝子と軽鎖遺伝子のコピー数を確認した。関心の抗体を発現するクローンを、バイオレイヤー干渉法プロテインAバイオセンサーを使用して選択し、発現をモニタリングした(Octet、Forte Bio)。

40

【0494】

実施例4 ピキア・パストリスにおけるAb3、Ab6、およびAb14の発現

全長抗体を発現するための3つのピキア株を作製した。全長抗体を発現するすべての株について、一倍体株を作製してから接合した。ある1つの一倍体株が全長軽鎖配列を発現し、別の一倍体株が全長重鎖配列を発現した。各二倍体株を用いて研究細胞バンクを作製

50

し、バイオリアクター内での発現に用いた。

【0495】

最初に、研究細胞バンクを使用し、以下の栄養素（% w / v）：酵母エキス 3 %、無水デキストロース 4 %、YNB 1 . 3 4 %、ビオチン 0 . 0 0 4 %、および 1 0 0 m M のリン酸カリウムで構成される培地を使用して、接種原を拡大させた。発酵槽用の接種原を作製するため、3 0 で約 2 4 時間、3 0 0 r p m の振盪インキュベーター内で細胞バンクを拡大させた。次に、1 0 % 接種原を、1 L の無菌増殖培養液が入った作業体積 2 . 5 L の L a b f o r s 容器に加えた。増殖培養液は以下の栄養素で構成した：硫酸カリウム 1 8 . 2 g / L、第一リン酸アンモニウム 3 6 . 4 g / L、リン酸水素二カリウム 1 2 . 8 g / L、硫酸マグネシウム七水和物 3 . 7 2 g / L、クエン酸ナトリウム二水和物 1 0 g / L、グリセロール 4 0 g / L、酵母エキス 3 0 g / L、PTM 1 微量金属 4 . 3 5 m L / L、および消泡剤 2 0 4 1 . 6 7 m L / L。PTM 1 微量金属溶液は、以下の成分で構成した：硫酸銅五水和物 6 g / L、ヨウ化ナトリウム 0 . 0 8 g / L、硫酸マンガン水和物 3 g / L、モリブデン酸ナトリウム二水和物 0 . 2 g / L、ホウ酸 0 . 0 2 g / L、塩化コバルト 0 . 5 g / L、塩化亜鉛 2 0 g / L、硫酸第一鉄七水和物 6 5 g / L、ビオチン 0 . 2 g / L、および硫酸 5 m L / L。

10

【0496】

バイオリアクターの工程制御パラメータを次のように設定した：撹拌 1 0 0 0 r p m、エアフロー毎分 1 . 3 5 標準リットル、温度 2 8 、pH は水酸化アンモニウムを用いて 6 に調節。酸素補給は行わなかった。

20

【0497】

溶存酸素の急増で初期グリセロールの消費が示されるまで、発酵培養物を約 1 2 ~ 1 6 時間増殖させた。溶存酸素の急増後、約 3 時間、培養物を飢餓状態にした。この飢餓時間の後、リアクターにエタノールの急速追加を与えて 1 % エタノール（w / v）に到達させた。発酵培養物を 1 5 ~ 3 0 分間かけて平衡化させた。エタノールの急速追加から 3 0 分後に飼料追加を開始し、1 m L / 分の定速 4 0 分間に設定した。次に、エタノールセンサーにより飼料ポンプを制御し、エタノール検出プローブ（レーベンバイオテック）を用いて、実験の残り時間中エタノール濃度を 1 % に維持した。飼料は以下の成分で構成した：酵母エキス 5 0 g / L、デキストロース 5 0 0 g / L、硫酸マグネシウム七水和物 3 g / L、および PTM 1 微量金属 1 2 m L / L。全長 A b 6 および A b 1 4 の発酵のため、クエン酸ナトリウム二水和物（0 . 5 g / L）も飼料に加えた。総発酵時間は約 9 0 時間であった。

30

【0498】

実施例 5 抗体をヒト化する方法

抗体をヒト化する方法は、発行済み米国特許第 7 9 3 5 3 4 0 号で以前に説明されている（その開示内容の全体が、参照により本明細書に組み込まれる）。場合によっては、活性を維持するために追加のウサギフレームワーク残基が必要かどうかの決定が必要とされる。場合によっては、親和性または活性の損失を最小にするため、ヒト化抗体は依然として、いくつか重要なウサギフレームワーク残基を保持する必要がある。このような場合、所望の活性を得るには、単一または複数のフレームワークアミノ酸を、ヒト生殖系列配列から元のウサギアミノ酸に戻す必要がある。このような変更は実験により決定され、親和性または活性を維持するのに必要なウサギ残基が特定される。これが、可変の重鎖および軽鎖ヒト化アミノ酸配列の末端となる。

40

【0499】

実施例 6 C G R P のその細胞受容体への結合の阻害

C G R P がその細胞受容体に結合するのを阻害する組換え発現抗体の能力を特性評価するため、以前に説明されている通りに放射性リガンド結合アッセイを実施した [Elshourbagy et al, Endocrinology 139:1678 (1998); Zimmerman et al, Peptides, 16:421 (1995)]。組換えヒト C G R P 受容体、カルシトニン受容体様受容体、および R A M P 1 の膜標本（Chemiscreen、ミリポア）を使用した。抗体希釈液を、¹²⁵I で放射

50

標識されたヒトCGRP (0.03 nM) と共に室温で30分間ブレインキューベートした。0.1 μMのヒトCGRPの存在下で、非特異的結合を見積もった。膜を濾過し、洗浄した。次に、フィルターをカウントすることにより、特異的に結合した¹²⁵I放射標識ヒトCGRPを特定した。

【0500】

結果：図38は、抗CGRP抗体Ab1～Ab13がCGRPとその細胞受容体の間の結合を阻害することを示す。

【0501】

実施例7 ウサギにおける抗CGRP抗体による神経原性血管拡張の阻害

CGRPは強力な血管拡張物質である(Nature 313: 54-56 (1985) and Br J. Clin. Pharmacol. 26(6):691-5. (1988))。CGRP受容体アンタゴニスト活性を非侵襲的に測定する薬力学アッセイを用いて、抗CGRP抗体の特性を評価した。このモデルでは、カプサイシン溶液を局所投与した後の真皮血流速の変化をレーザードブラー画像法で測定した。カプサイシンは一過性受容体電位パニロイド1型受容体(TRPV1)を活性化し、CGRPおよびサブスタンスPを含む血管作用物質の局所放出を介して神経原性炎症および血管拡張を発生させる(Br. J. Pharmacol. 110: 772-776 (1993))。

【0502】

血管拡張アッセイより前の日に、動物に試験剤または対照をIP(腹腔内)投与した。投与後、動物の腰部の背側約2×6cmの領域を剪毛・脱毛した。次に、動物をケージに戻して一晩置いた。投与から約24時間後の試験日に、動物をイソフルランガスで麻酔し、温度管理された加温パッドに置き、ノーズコーンを着けてイソフルランの送達を継続した。血管拡張の観察にはレーザードブラーイメージャーを使用した。633nmのヘリウムネオンレーザーで生成された赤色コヒーレント光線を長方形(2×6cm)の剪毛領域に向け、中間解像度モードでスキャンした。最初にベースラインドブラスキャンを取得し、2つの類似の低流量領域を特定することによりリングの配置位置を事前に決定した。選定した領域に2つのゴムリング(直径1cm未満)を置き、ベースラインスキャンを実施した。スキャン完了の直後、2つの各リングの内側に5μLのエタノール：アセトン溶液(1:1)中1mgのカプサイシンを塗布した。カプサイシン塗布から2.5、5、7.5、10、12.5、15、17.5、20、22.5、25、27.5、および30分後にドブラスキャンを繰り返し実施した。2つの各リング内側のベースライン平均流量からの変化の割合を、カプサイシンによる血管拡張作用の結果としてプロットした。

【0503】

組換え発現抗体がCGRPとその細胞受容体の間の結合を阻害する能力を試験するため、上記のように放射性リガンド結合アッセイを実施した。

【0504】

結果：図39および40は、カプサイシン投与後に抗CGRP抗体Ab3、Ab6が本モデルの血管拡張を減少させたことを示す。

【0505】

実施例8 CGRP抗体投与が過活動膀胱に及ぼす効果

抗CGRP抗体投与が膀胱自制と過活動膀胱に及ぼす潜在的効力を評価する実験を行った。膀胱自制とは、尿道閉鎖と排尿筋活動の間のバランスのことであり、過活動膀胱とは、切迫、尿失禁、頻尿、および夜間頻尿を特徴とする状態である。文献で報告されたある事例証拠では、CGRPが膀胱自制に関与している可能性があり、またCGRPは過活動膀胱疾患症状と相関し、おそらく因果的役割を果たしている可能性があることを示唆している。こうしたことから、本発明の抗CGRP抗体は、特にCGRPとの親和性が高いことから判断して、この時として衰弱性の症状を予防または軽減し得ることが期待された。CGRPが過活動膀胱で何らかの役割を果たすと考えられる証拠の1つに、CGRPが尿路、DRG、および脊髄に存在するという事実が挙げられる(Wharton et al., 1986 Neurosci (3):727)。また、排尿に関与するインパルスを脊髄に運ぶにはC線維求心路が不

可欠である (Yoshida et al., 2011 J Pharmacol Sci (112):128) が、この線維は C G R P の影響を受ける。さらに、酢酸誘発性の膀胱痛モデルにおいて、ボトックスの膀胱内投与が C G R P を抑制し収縮間隔を有意に減少させることが、すでに報告されている (Chuang et al., 2004 J Urol (172):1529; Chuang et al., 2009 J Urol (182):786))。さらに最近では、テレピン油誘発性の過活動膀胱モデルにおいて、抗 C G R P 抗体を投与すると膀胱収縮数が減少するという主旨の報告がなされている (ファイザー社 P C T 特許出願国際公開第 2 0 1 1 / 0 2 4 1 1 3 号)。

【 0 5 0 6 】

材料および方法

動物：

雌性 Sprague Dawley ラット (247 ~ 299 g) (チャールズリバーラボラトリーズ、フランス、サンジェルマン・シュル・ラルブレール) を、実験室条件に順化させるため実験の 5 日前までに実験室に納入させた。各ケージ (ポリプロピレン E 型ケージ、サイズ: 1032 cm²) に 3 匹ずつ収容し、食物 (Teklad 2016 global rodents、ハーラン、フランス、ガナ 03800) と水を自由に摂取させた。げっ歯類ケージ用のおがくず (Souralite 2912 plus、Souralite、スペイン、ジローナ 17080) の床敷きを 1 週間に 2 回交換した。12 / 12 時間の明暗サイクル (明期午前 7 時 : 午後 7 時) で動物の室温 (20 ± 2) を維持し、相対湿度を 40 ~ 70 % に維持した。

【 0 5 0 7 】

実験室機器

膀胱カテーテルを、T 字管を介してひずみゲージ MX 860 Novatrans II Gold (Medex Medical 社、フランス、ナントカルクフー) とシリンジポンプ (70 2208 Model II plus、Harvard Apparatus 社、フランス、レ・ジュリス、および Razel R 99E、Fisher Bioblock 社、フランス、イルキルシュ) に接続した。PowerLab インタフェース (AD Instruments 社、オーストラリア、キャッスルヒル)、および PC 上で動作する Chart (登録商標) ソフトウェアを使用して、膀胱内圧を連続的に記録した。マイクロソフトの Excel (登録商標) ソフトウェアを用いてデータを分析した。

【 0 5 0 8 】

試験物質

試験抗 C G R P 抗体 (Ab3)

陰性対照抗体 (抗ジギトキシン抗体)

【 0 5 0 9 】

化学試薬

生理食塩水 (NaCl 0.9%) (バッチ番号 11043411、CAS 番号 7647 14 5) を、Centravet (フランス、ラパリス) を介してビー・ブラウンから購入した。

【 0 5 1 0 】

麻酔物質

ウレタン (バッチ番号 BCB C 9294、CAS 番号 51 79 6) およびペントバルビタールナトリウム (バッチ番号 150A1、CAS 番号 76 74 4) が、それぞれシグマアルドリッチ (フランス、サンカンタン・ファラヴィエ) と Centravet (フランス、ラパリス) から提供された。

【 0 5 1 1 】

実験群

各 10 匹のラットからなる 2 つの実験群を実験に使用した。各群に、10 mg / kg の対照抗体または抗 C G R P 抗体を投与した。

【 0 5 1 2 】

実験計画

実験手順

実験の18時間前に、尾静脈注射により、雌性ラットに試験抗体または陰性対照抗体を10mg/kgの用量で静脈内投与した。15時間後、ラットをウレタンで麻酔した(1.2g/kg、皮下(sc))。ウレタンの皮下投与から3時間後、ドームを介してポリエチレンカテーテル(内径0.58mm、外径0.96mm)を膀胱に挿入し、巾着縫合で固定した。実験全体を通じて、体温を 37 ± 2 に維持した(TCAT 2LVコントローラー、Physitemp、ADInstrument社、オーストラリア、キャッスルヒル)。

【0513】

膀胱内圧測定実験

外科処置後に麻酔した雌性ラットにおいて、膀胱内圧調査を行った。室温の生理食塩水を少なくとも30分間、一定流量で(2mL/時間)連続的に膀胱に注入した。

【0514】

膀胱内圧測定実験の終了後、ペントバルビタールナトリウム(54.7mg/mL)(CAS番号76744)の致死注射(1mL)およびそれに続く頸椎脱臼により動物を殺処分した。

【0515】

膀胱内圧パラメータ：

測定した膀胱内圧パラメータは次の通りである：

排尿の振幅(AM)、すなわち排尿の限界圧力と最大圧力の間の圧力(mmHg)。

収縮間隔(ICI)、すなわち連続した2回の排尿間の時間(秒)。

排尿頻度(MF)、すなわち排尿収縮数/15分(ピーク数/15分)。

【0516】

除外基準

次の2匹のラットを実験から除外した。1匹は、生理食塩水の膀胱内注入中に膀胱過活動を示したため除外した。もう1匹は、実験中に麻酔深度が変化したために膀胱内圧測定プロファイルの修正が生じた。

【0517】

結果の分析

生理食塩水注入中の最後の4回または5回の排尿の平均として、各ラットのAMおよびICIの値を計算した。生理食塩水注入中に15分間隔の2回の排尿で得られた平均として、MF値を計算した。

【0518】

結果を平均値 \pm 平均値の標準誤差(\pm SEM)で表す。GraphPad Prism(登録商標)(バージョン4、グラフパッドソフトウェア社、米国カリフォルニア州ラホーヤ)を用いて作図と統計分析を行った。

【0519】

対応のないスチューデントt検定を用いて、抗CGRP抗体群と対照抗体群の値(生理食塩水注入)を統計的に比較した。

【0520】

$p < 0.05$ を統計的有意性があるものとして容認した。

【0521】

結果：

図41に示すように、抗CGRP抗体処置群の方が、ICIが有意に高く、MFが有意に低かった(それぞれ図41A、図41B； $p < 0.05$ 、対応のないスチューデントt検定)。AMに関しては、2群間に有意差は見られなかった(図41C、 $p > 0.05$ 、対応のないスチューデントt検定)。

【0522】

これらの結果は、過活動膀胱の予防または軽減、尿禁制の改善、および関連の尿症状の治療において、抗CGRP抗体が有用であり得ることを示唆している。

10

20

30

40

50

【0523】

実施例9 ラットにおける神経因性疼痛の軽減

末梢神経が損傷すると、神経因性の慢性関連痛が生じることが多い。この疼痛症候群は、通常は有害でない外部刺激（例えば機械刺激および/または熱刺激）に対する感受性からなる。結果として、神経因性疼痛は従来の鎮痛剤使用による方法に抵抗性があり、治療を困難にしている。実験的に、外科的に末梢神経に外傷を与えることで、神経因性疼痛を動物でモデル化できる。このような系の一例であるChungモデルでは、脊髄神経のL5とL6を結紮することにより神経因性疼痛を誘発する。

【0524】

本実施例では、雄性Sprague Dawleyラットに対して脊髄神経の結紮を行った。13日目に痛覚感受性を検査し（アロディニアの確認）、その後、Ab2をそれぞれ投与した後、再び機械的アロディニアのvon Freyテストを用いて、抗アロディニア活性の可能性を評価した。

10

【0525】

方法

到着時体重200～225gの雄のSprague Dawleyラット（ハーランラボラトリーズ）を開梱し、ケージに入れた。各動物を目視で健康チェックし、外被、四肢、開口部の評価を含めた。また、各動物の姿勢や動きに異常な徴候がないのかも調べた。すべての動物が良好な健康状態にあることを確認し、実験に使用した。

【0526】

到着の翌日に無作為化体重を収集したことを除き、実験手順の開始前に少なくとも2日かけてラットを順化させた。動物を、透明ポリカーボネート製の従来型ケージ、または認証済みの照射接触床敷きを有する透明ポリカーボネート製のマイクロアイソレータケージに個別に収容した。食物と水を自由に摂取させた。温度18～26（64°F～79°F）、相対湿度30%～70%を維持するように環境制御を設定した。12：12時間の明暗サイクルを維持した。

20

【0527】

von Frey式フィラメントを使用して、順化の4日前または1日前にラットのペースライン閾値を試験した。

【0528】

0日目に、動物に脊髄神経結紮手技を施した。すべての外科手技は無菌条件下で行った。外科手技の前にラットに麻酔をかけた。背部を剃毛し、無菌外科手技の準備をした。ラットを腹臥位に置き、L4-S2領域の正中線のすぐ左を切開した。棘突起（L4-S2）から左傍脊柱筋を分離した。L6-S1椎間関節を挟み、横突起を穏やかに切り取って、L4およびL5脊髄神経にアクセスする空間を作った。左L5およびL6脊髄神経を分離し、6.0絹縫合糸で結紮した。次に、切開部を適切な縫合材および皮膚創傷クリップで閉じた。外科手技後、乳酸加リンガー液（3.0～5.0mL）を皮下注射により動物に投与した。

30

【0529】

群1、群2のすべての動物に対し、4日前または1日前、13日目、14日目、および17日目にvon Frey試験を行った。13日目の測定は投与前に行った。機械的アロディニアに関するvon Frey試験では、鎮痛化合物の抗侵害受容特性を評価する。本試験では、最初に動物を試験チャンバーに慣れさせ、評価する痛覚閾値に対して十分に鎮静した状態にした。各処置群に対して盲検の技術者が、徐々に直径が増加する一連の段階的ナイロンフィラメント（von Freyフィラメント）を用いて、ラットの左後足に軽く圧力をかけた。フィラメントを足の腹側表面に垂直に置き、足が曲がるまでフィラメントを押し当てた。痛みがあると判断すると、ラットは自身の足を引っ込めることで反応する。Chaplan up down法（Chaplan et al., J Neurosci Methods, 53:55-63, 1994）を使用してアロディニア閾値を測定した。Chaplan up down法により、心理物理的な試験目盛りを用いて、各ラットが足を引く際の正確な力を測定

40

50

できる。

【0530】

13日目に、von Freyスコアに基づき動物群を2つの処置群に割り当てた。von Freyスコアが6gより高い動物は、実験から除外した。各群の平均von Freyスコアを調べ、平均値と標準偏差が均一性の仮定を満足していることを確認した。13日目（外科手技から13日後）に、群1（Ab2）と群2（陰性対照抗体）に腹腔内注射により抗体を投与した（各群11匹；Ab2および陰性対照抗体を10mg/kg用量で投与）。群1には、行動試験前の17日目にAb2を静脈内ボラス（無麻酔）注射により追加投与した。

【0531】

17日目に群1の血漿用血液試料を採取し、Ab2力価を分析した。

【0532】

外科手技部位で予想される所見およびChung外科手技に関連する足のひきずりを除き、異常所見の記述はなかった。処置の結果として、動物の全般的健康が悪影響を受けた様子はなく、この週齢のラットに予想される通常の体重増加は妨害されていなかった。

【0533】

結果

0日目の外科手技より前にベースライン試験を受けたどの動物も、von Freyスコアは15（表示せず）であり、正常な感受性を示した。13日目（抗体投与の前）は、実験から除外された2匹を除き、どの動物もvon Freyスコアは6g未満であり、外部の機械刺激に対する感受性が発達したことを示した。13日目のvon Freyスコアの平均は3g未満であった（図42、左の棒群）。13日目の試験の後、動物にAb2または陰性対照抗体（10mg/kg）を投与した。14日目と17日目にvon Freyスコアを再テストしたところ、対照群よりAb2で処置された動物群の方がvon Freyスコアが高かった（図42、それぞれ中央と右の棒群）。

【0534】

この結果は、Ab2などの抗CGRP抗体による処置が、神経因性疼痛の予防または軽減に役立ち得ることを表す。

【0535】

実施例10 抗CGRP抗体投与が痛覚消失に与える効果を評価する1回目の実験（テールフリックモデル）

3種類の実験（実施例10～12）を実施して、抗CGRP抗体投与が痛覚消失または疼痛に与える潜在的効力を評価した。放射熱に対するげっ歯類のテールフリック（尻尾の引っ込みとも呼ばれる）応答は、潜在的に有用な鎮痛剤を検出するモデルとして一般に使われているため、本実験のすべてにおいて、げっ歯類のテールフリック応答モデルを使用した。本アッセイは、中枢に作用するモルヒネ様鎮痛薬（活性）と、非オピオイド性すなわち末梢に作用する抗炎症剤（非活性）とを区別するのに特に有用である。本動物モデルおよび本モデルで使用した方法と材料を以下に述べる。

【0536】

材料および方法

動物：雄のSprague Dawley由来の体重 150 ± 20 gの雄性ラット。

【0537】

試験CGRP抗体：Ab2

【0538】

ビヒクル：15mMヒスチジン 250mMソルビトール、pH5.5

【0539】

鎮痛化合物：モルヒネ

【0540】

テールフリック応答手順：体重 150 ± 20 gのSprague Dawley由来雄性ラット10匹からなる各群の痛覚閾値として、集束放射熱に誘起されるテールフリック

10

20

30

40

50

の誘発に要する時間（秒数）を測定した。0日目にテールフリック応答のベースライン試験を行った。テールフリック応答が3～5秒のラットを実験に含め、ベースラインテールフリック応答に基づきバランス処置群に割り当てた。組織損傷を避けるため、15秒切断を使用した。

【0541】

モルヒネ耐性の形成

各10匹の雄性Sprague Dawleyラットからなる3群のそれぞれに、午前と午後の1日2回、生理食塩水ビヒクル（2ml/kg）を腹腔内に投与した。さらに、3群のうちの1群には、連続7日間、5mg/kg用量の鎮痛剤（モルヒネ）を1日2回腹腔内投与した。3群のラットのうちの第2群には、用量10mg/kgの本発明の抗CGRP抗体（Ab2）を、0日目に単回ボラスとして腹腔内に投与した。午前の投与から30分後の1日1回、各群のラットのテールフリック応答を試験した。

【0542】

一元配置ANOVAの後にダネットのt検定を適用して、ビヒクル対照群と試験化合物処置群を比較した。P<0.05を有意とみなした。

【0543】

これらの実験の結果を図43に示す。図中の結果は、試験CGRP抗体を10mg/kgで投与した場合、熱痛刺激に対して長時間の著しい鎮痛効果が誘発されたことを示す。心穿刺によりすべての試験ラットから終末期血液試料を採取し、後にAb2力価を分析した。

【0544】

実施例11：CGRP抗体が痛覚消失に与える効果を評価する第2のテールフリック実験（抗体用量滴定）

2セット目のテールフリック実験では、本発明の抗CGRP抗体（Ab2）を用いて、様々な用量の抗CGRP抗体が痛覚消失に与える効果を評価した。この実験で使用したラットの種類は直前の実験と同じであり、テールフリックプロトコルは実質的に同一である。この実験では、複数の異なる動物群に様々な用量の抗CGRP抗体を投与し痛覚消失を群間で比較して、投与量が痛覚消失に影響するかどうかを評価した。この2セット目の実験では、5群の試験動物を次のように比較した。動物の第1群である対照群には、各動物にビヒクルを単独で投与した（15mMヒスチジン 250mMソルビトール、pH5.5）。3つの動物群には、ビヒクルに含まれる同一の抗CGRP抗体の用量を変えて各群に投与した（0日目に、それぞれ1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg用量のAb2を投与）。第5の動物群には、同じ0日目に陰性対照抗体（抗ジギトキシン抗体）10mg/kgを投与した。

【0545】

テールフリックプロトコルの他の点も実質的に上記の通りに実施した。同様に、一元配置ANOVAの後にダネットのt検定を行って結果を評価し、ビヒクル対照、陰性対照抗体、および試験CGRP抗体でそれぞれ処置した群間で比較した。P<0.05を有意とみなした。

【0546】

これらの実験の結果を図44に示す。この図から、試験化合物（本発明のAb2抗CGRP抗体）の抗体投与量が多い方が、低用量と比べて良好な鎮痛効果を誘発していることが分かる。予想通り、陰性対照抗体は、対照群と比べて知覚可能な鎮痛効果を誘発していなかった。

【0547】

実施例12：抗CGRP抗体/モルヒネ併用の鎮痛効果を評価する第3のテールフリック実験

第3のテールフリック実験も実施し、抗CGRP抗体/モルヒネ併用の鎮痛効果を評価した。この実験では、第1の動物群に同じ単独のビヒクルを5ml/kgの用量で投与した。第2の動物群には、1～10日目に1日2回、用量5mg/kgのモルヒネを投与し

た。また、この動物群には、0日目に用量10mg/kgの抗CGRP抗体Ab2も投与した。第3の動物群には、1～4日目のみ1日2回、用量濃度5mg/kgのモルヒネを投与し、さらに0日目に用量10mg/kgのAb2抗体を投与した。いずれも腹腔内に投与した。

【0548】

0～10日目に1日1回、これらの各動物群においてテールフリック実験を実施した。このテールフリック実験の結果を、再び一元配置ANOVAの後にダネットのt検定を行って評価し、ビヒクル対照、陰性対照抗体、および試験抗CGRP抗体でそれぞれ処置した群間で比較した。P<0.05を有意とみなした。

【0549】

これらの比較結果の概要を図45に示す。Ab2で処置され、実験期間を通して毎日モルヒネを投与された動物群はモルヒネ耐性を示し、5日目より後は、テールフリック時間がビヒクル処置対照動物群とほぼ同じレベルまで減少した。対照的に、Ab2で処置され、4日目までモルヒネのみを投与された動物群では、5日目にテールフリック時間が改善し、8日目まで改善状態が持続した。この結果が示唆することは、抗CGRP抗体を投与した場合、モルヒネ耐性が開始した後も鎮痛効果があり得、モルヒネの中止時に鎮痛効果がいっそう明白になり得ることである。

【0550】

実施例13 ラットにおける内臓痛の軽減

過敏性腸症候群(IBS)を患う患者は、結腸バルーン拡張に対して低い内臓感覚閾値を示す(Ritchie, Gut, 1973, 14:125-32)。IBSにおいて、通常の活性化パターンで脳腸管軸の痛覚感受性が増大することが示唆されている。以前に覚醒ラットで行われた測定では、近位結腸にトリニトロベンゼンスルホン酸(TNBS)を注射すると、慢性の結腸過敏症が誘発され、結腸拡張に対する痛覚閾値が低下することが示された(Diop et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 2002, 302:1013-22)。この慢性過敏症は遠位の非炎症結腸に見られ、21日間持続した。この慢性過敏症はIBSのある特徴を模倣したものであるため、これをモデルとして使用して、この障害の病態生理側面を実験で調査することができる。このアッセイを用いて、TNBS誘発性の結腸過敏症に対する化合物の潜在的な抗過敏効果を測定する。

【0551】

これまでに、いくつかの研究がCGRPを内臓痛に関係付けている(Friese et al., Regul Pept 1997;70:1-7, Gschossmann et al., Neurogastroenterol Motil 2001;13:229-36, Julia and Bueno, Am J Physiol 1997;272:G141-6, Plourde et al., Am J Physiol 1997;273:G191-6)。CGRPは、胃腸管由来のカプサイシン感受性の求心性線維の最も豊富なペプチドであり、ペプチド免疫活性全体の最大80%を占める(Clague et al., Neurosci Lett 1985;56:63-8; Sternini et al., Gastroenterology 1987;93:852-62)。加えて、TNBSモデルにおいてCGRPを注射すると結腸過敏症が誘発されるが(Delafooy et al., 2006, Gut 55:940-5)、CGRPアンタゴニストペプチド(CGRP837)により、この結腸過敏性が逆行する。

【0552】

本実施例は、ラットの内臓痛モデル(TNBS誘発性の慢性結腸過敏症)における抗CGRP抗体の試験について述べる。

【0553】

方法

外科手技日現在で体重390～450gの雄のSprague Dawleyラットを本実験に含めた。温度(19.5～24.5)と相対湿度(45%～65%)が制御された12時間の明暗サイクルの部屋にラット群を収容した。2～3匹ずつケージに収容し、試験前の順化期間(少なくとも5日)を遵守した。尾に印を付けて各ラットを識別した。この実験は、IASPの動物実験に関する倫理委員会のガイドライン(1983)および欧州ガイドライン2010/63/UEに従って行った。

10

20

30

40

50

【0554】

行動試験の7日前に、トリニトロベンゼンスルホン酸（TNBS、50 mg/kg）の外科的投与により結腸敏感症を誘発させた。絶食させた（24時間）動物に外科手技を施した。手短に述べると、麻酔下（アセプロマジン5 mg/kg / ケタミン30 mg/kg）で、結腸の近位部（盲腸から1 cm）にTNBS（50 mg/kg、1 ml/kg）を注射した。外科手技の後、動物を環境調節されたケージに戻し、7日後の試験日まで自由に摂食させた。「無処置」の動物群（外科手技を受けていないラット）を同一の収容条件下に置いた。

【0555】

結腸閾値判定の24時間前に、動物に抗CGRP抗体Ab2または陰性対照抗体（どちらも10 mg/kg）を静脈内投与した。以下の3つのラット群を本実験に含めた。

10

【0556】

群1：7日前の外科手技すなわちTNBS処置を受けず、試験の24時間前（すなわち1日前）（すなわち0日目に結腸拡張閾値を測定）に対照抗体で処置された動物で構成される「無処置」群（n = 7）。

【0557】

群2：7日前の外科手技を受け、試験の24時間前（すなわち1日前）（すなわち0日目に結腸拡張閾値を測定）に対照抗体で処置された動物で構成される「TNBS」群（n = 8）。

【0558】

群3：7日前の外科手技を受け、試験の24時間前（すなわち1日前）（すなわち0日目に結腸拡張閾値を測定）にAb2で処置された動物で構成される「処置」群（n = 8）。

20

【0559】

TNBS注射の7日後（7日目）に結腸感受性を評価した。この評価は、結腸にバルーンを導入し、バルーンの膨張による結腸拡張時に行動反応を誘発するのに要する結腸内圧力を測定することにより行った。この試験は、実験者が盲検で実施した。この行動反応の特徴は、動物の体の後方部分が上昇し、激しい収縮に呼応して腹部の収縮が明確に目視できることであり（Al Chaer et al., Gastroenterology 2000, 119:1276-1285）、痛覚マーカーとして使用される（Bourdu et al., Gastroenterology. 2005:128, 1996-2008）。絶食状態（24時間）の覚醒動物の肛門から10 cm位置に、最も侵襲が少ない方法でバルーン（5 cm）を直腸内に挿入し、尾の付け根にカテーテルをテープで留めた。次に、プレキシガラスの中央にラットを置き、カテーテルを電子圧力調節器に接続した。バルーンを挿入した状態で30分間順化させた後、疼痛行動が明確に確認されるまで、結腸圧力を5 mmHgから75 mmHg（カットオフ）まで30秒ごとに5 mmHgずつ上昇させた。バルーン挿入から30分後、50分後、70分後、90分後の4回測定した。

30

【0560】

各試験で得たデータを使用して、TNBSの結腸内投与で誘発した結腸過敏症に対する活性のパーセントを次のように計算した。

【数1】

40

$$(\text{活性}\%)_{\text{処置}} = \frac{\text{拡張閾値}_{\text{処置}} - \text{拡張閾値}_{\text{TNBS}}}{\text{拡張閾値}_{\text{無処置}} - \text{拡張閾値}_{\text{TNBS}}} \times 100$$

【0561】

拡張閾値_{処置}は「処置」群の値の算術平均であり、拡張閾値_{TNBS}は「TNBS」群の値の算術平均であり、拡張閾値_{無処置}は「無処置」群の値の算術平均である。

【0562】

結果

TNBSの投与により慢性結腸過敏症を誘発させたラットモデルにおいて、抗CGRP抗体が内臓痛を軽減する能力を試験した。結腸拡張閾値（すなわち動物が行動反応（筋収縮）を示すまでに耐性を示した腹圧量）を測定することにより、内臓痛を定量化した。結

50

腸拡張閾値が高いほど、感受性が低いことを表す。予想通り、無処置の動物と比べて、TNBS処置は結腸拡張閾値が大きく低下した(図46の中央の棒(TNBS処置)と左の棒(無処置)を比較)。対照動物群と比べて、Ab2投与は結腸拡張閾値が改善した(図46の右の棒(Ab2処置)と中央の棒(対照)を比較)。Ab2投与による改善は統計的に有意であった($p < 0.05$ スチューデントのt検定、TNBS+陰性対照群と比較)。Ab2の抗過敏活性の計算値は27%となった(TNBS誘発性過敏症の軽減の度合いを示す)。

【0563】

この結果は、抗CGRP抗体が内臓痛の予防または軽減に有用であり得ることを示唆する。

10

ある態様において、本発明は以下であってもよい。

〔態様1〕 Ab1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7、Ab8、Ab9、Ab10、Ab11、Ab12、Ab13またはAb14から選択される抗ヒトCGRP抗体などの、同一もしくは重複直線状または立体構造エピトープ(複数可)と特異的に結合する、および/または完全CGRPポリペプチドもしくはその断片上の同一もしくは重複直線状もしくは立体構造エピトープ(複数可)との結合について競合する、抗ヒトCGRP抗体または抗体断片。

〔態様2〕 Ab3、Ab6、Ab13またはAb14などの、同一もしくは重複直線状または立体構造エピトープ(複数可)と特異的に結合する、および/または完全ヒトCGRPポリペプチドもしくはその断片上の同一もしくは重複直線状または立体構造エピトープ(複数可)への結合について競合する、態様1記載の抗ヒトCGRP抗体または断片。

20

〔態様3〕 前記断片が、Fab断片、Fab'断片、F(ab')₂断片、または一価抗体、たとえば「metMab」から選択される、態様1記載の抗体断片。

〔態様4〕 前記断片がFab断片である、態様3記載の抗体断片。

〔態様5〕 Ab1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7、Ab8、Ab9、Ab10、Ab11、Ab12、Ab13またはAb14から選択される抗ヒトCGRP抗体と同じCDRを含む、態様1記載の抗ヒトCGRP抗体または抗体断片。

〔態様6〕 配列番号25のCDR1配列、配列番号26のCDR2配列、および配列番号27のCDR3配列を含む可変軽鎖、ならびに/または配列番号28のCDR1配列、配列番号29のCDR2配列、および配列番号30のCDR3配列を含む可変重鎖を含む、態様4記載のFab断片。

30

〔態様7〕 配列番号55のCDR1配列、配列番号56のCDR2配列、および配列番号57のCDR3配列を含む可変軽鎖、ならびに/または配列番号58のCDR1配列、配列番号59のCDR2配列、および配列番号60のCDR3配列を含む可変重鎖を含む、態様4記載のFab断片。

〔態様8〕 可変軽および可変重領域のそれぞれにおいて、Ab1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7、Ab8、Ab9、Ab10、Ab11、Ab12、Ab13またはAb14から選択される抗ヒトCGRP抗体中に含まれるものと同一である少なくとも2つの相補性決定領域(CDR)を含む、態様1記載の抗ヒトCGRP抗体または抗体断片。

40

〔態様9〕 可変軽および可変重領域のそれぞれにおいて、Ab3、Ab6、Ab7、Ab8、Ab13またはAb14中に含まれるものと同一である少なくとも2つの相補性決定領域(CDR)を含む、態様8記載の抗ヒトCGRP抗体または抗体断片。

〔態様10〕 アグリコシル化であるか、またはグリコシル化されている場合はマンノース残基だけを含むだけである、態様1記載の抗ヒトCGRP抗体または抗体断片。

〔態様11〕 N-グリコシル化されていない、態様1記載の抗ヒトCGRP抗体または抗体断片。

〔態様12〕 エフェクター機能、半減期、タンパク質分解、および/またはグリコシル化を改変するために修飾されたFc領域を含む、態様1記載の抗ヒトCGRP抗体また

50

は抗体断片。

〔態様 13〕 ヒト化、単鎖またはキメラ抗体である、態様 1 記載の抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片。

〔態様 14〕 ヒト細胞を発現する C G R P および / またはインビボの循環可溶性 C G R P 分子と特異的に結合する、態様 1 記載の抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片。

〔態様 15〕 C G R P と結合する細胞と関連する疾患の患者においてヒト細胞上またはヒト細胞によって発現される C G R P と特異的に結合する、態様 14 記載の抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片。

〔態様 16〕 前記疾患が、偏頭痛（前兆を有する、または有しない）、C G R P 関連疼痛をとまなう状態、体重減少、癌または腫瘍、過活動膀胱、尿失禁、掻痒症、乾癬、潰瘍、心臓疾患、癌または腫瘍成長に伴う血管形成、癌または腫瘍生存に伴う血管形成、偏頭痛、慢性偏頭痛、反復発作性偏頭痛、月経性偏頭痛、片麻痺型偏頭痛、群発性頭痛、偏頭痛様神経痛、慢性頭痛、緊張性頭痛、一般的頭痛、のぼせ、慢性発作性片側頭痛、頭頸部に内在する構造的問題による二次性頭痛、頭蓋神経痛、副鼻腔性頭痛（たとえば、副鼻腔炎を伴うものなど）、アレルギー誘発性の頭痛もしくは偏頭痛、疼痛、T M J、顎関節症、炎症性痛覚、内臓痛、術後創疼痛、複合性局所疼痛症候群、癌性疼痛、原発性もしくは転移性骨癌性疼痛、骨折痛、骨粗鬆症性骨折痛、熱傷に起因する疼痛、骨粗鬆症、痛風性関節痛、鎌状赤血球発症に伴う疼痛、および他の侵害受容性疼痛、ならびに肝細胞癌、乳癌、肝硬変、神経性疼痛、神経因性疼痛、侵害受容性疼痛、三叉神経痛、ヘルペス後神経痛、幻肢痛、線維筋痛、生理痛、卵巣痛、反射性交換神経性ジストロフィー、神経原性疼痛、骨関節炎痛もしくはリウマチ性関節炎痛、腰痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛、または胃食道逆流と関連する内臓痛、消化不良、過敏性腸症候群、炎症性腸疾患、クローン病、回腸炎、潰瘍性大腸炎、腎疝痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、または膀胱炎である、態様 15 記載の抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片。

〔態様 17〕 前記疾患が、疼痛、内臓痛、T M J、顎関節症、頭痛、過活動膀胱、尿失禁または偏頭痛から選択される、態様 15 記載の抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片。

〔態様 18〕 前記疾患が偏頭痛である、態様 17 記載の抗ヒト C G R P 抗体または断片。

〔態様 19〕 前記疾患が前兆の有無を問わない偏頭痛である、態様 17 記載の抗ヒト C G R P 抗体または断片。

〔態様 20〕 前記疾患が以下の種類の偏頭痛のうちの 1 つである、態様 17 記載の抗ヒト C G R P 抗体または断片：慢性偏頭痛、反復発作性偏頭痛、または月経性偏頭痛。

〔態様 21〕 前記疾患が群発性頭痛である、態様 17 記載の抗ヒト C G R P 抗体または断片。

〔態様 22〕 検出可能な標識または治療薬に直接または間接的に結合されている、態様 1 記載の抗ヒト C G R P 抗体または断片。

〔態様 23〕 態様 1 または態様 5 記載の抗ヒト C G R P 抗体または抗体断片の発現をもたらす核酸配列（複数可）。

〔態様 24〕 酵母またはヒトの好ましいコドンから構成される、態様 23 記載の核酸配列（複数可）。

〔態様 25〕 態様 24 記載の核酸配列（複数可）を含むベクター。

〔態様 26〕 プラスミドまたは組み換えウイルスベクターである、態様 25 記載のベクター。

〔態様 27〕 態様 1 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の抗体または抗体断片を発現する培養または組み換え細胞。

〔態様 28〕 哺乳動物、酵母、細菌、真菌、または昆虫細胞から選択される、態様 27 記載の細胞。

〔態様 29〕 酵母細胞である、態様 28 記載の方法。

〔態様 30〕 二倍体酵母細胞である、態様 29 記載の細胞。

〔態様 31〕 ピキア酵母である、態様 30 記載の酵母細胞。

10

20

30

40

50

〔態様３２〕 ＣＧＲＰアンタゴニストの投与によって治療可能な疾患または状態の患者に、治療有効量の態様１または５記載の少なくとも１つの抗ヒトＣＧＲＰ抗体または断片を投与することを含む治療方法。

〔態様３３〕 前記疾患または状態が、ＣＧＲＰ発現細胞と関連するものである、態様３２記載の方法。治療有効量の態様１または５記載の少なくとも１つの抗ヒトＣＧＲＰ抗体または断片の治療的有效量。

〔態様３４〕 前記疾患が、偏頭痛（前兆を有する、または有しない）、体重減少、癌または腫瘍、癌または腫瘍成長に伴う血管形成、癌または腫瘍生存に伴う血管形成、偏頭痛、慢性偏頭痛、反復発作性偏頭痛、または月経性偏頭痛片麻痺型偏頭痛、群発性頭痛、偏頭痛様神経痛、慢性頭痛、緊張性頭痛、一般的頭痛、のぼせ、慢性発作性片側頭痛、頭頸部に内在する構造的問題による二次性頭痛、頭蓋神経痛、副鼻腔性頭痛（たとえば副鼻腔炎に関連するものなど）、アレルギー誘発性の頭痛もしくは偏頭痛、疼痛、炎症性痛覚、術後創疼痛、複合性局所疼痛症候群、癌性疼痛、原発性もしくは転移性骨癌性疼痛、骨折痛、骨粗鬆症性骨折痛、熱傷に起因する疼痛、骨粗鬆症、痛風性関節痛、鎌状赤血球発症に伴う疼痛、および他の侵害受容性疼痛、ならびに肝細胞癌、乳癌、肝硬変、神経性疼痛、神経因性疼痛、侵害受容性疼痛、三叉神経痛、ヘルペス後神経痛、幻肢痛、線維筋痛、生理痛、卵巣痛、反射性交換神経性ジストロフィー、神経原性疼痛、骨関節炎痛もしくはリウマチ性関節炎痛、腰痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛、または胃食道逆流に関連する内臓痛、消化不良、過敏性腸症候群、炎症性腸疾患、クローン病、回腸炎、潰瘍性大腸炎、腎臓痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、または膵炎から選択される、態様３２または３３記載の方法。

10

20

〔態様３５〕 前記状態が、過活動膀胱；尿失禁；疼痛；慢性痛；神経原性炎症および炎症性痛覚；神経因性疼痛；眼痛；歯痛；手術後の痛み、外傷関連疼痛、糖尿病；非インシュリン依存型糖尿病および他の炎症性自己免疫障害、血管障害；炎症；関節炎；気管支過敏症、喘息；ショック；敗血症；アヘン製剤離脱症候群；モルヒネ耐性；男性および女性におけるのぼせ；アレルギー性皮膚炎；乾癬；脳炎；脳損傷；てんかん；神経変性疾患；掻痒症、神経性皮膚発赤、酒さおよび紅斑をはじめとする皮膚疾患；炎症性腸疾患、過敏性腸症候群、膀胱炎；および月経困難を含む、態様３２または３３記載の方法。

〔態様３６〕 前記疾患または状態が、疼痛、過活動膀胱、尿失禁、頭痛または偏頭痛である、態様３２または３３記載の方法。

30

〔態様３７〕 前記治療が、抗ヒスタミン剤、抗炎症薬、鎮痛剤または抗生物質から選択される別の治療薬またはレジメンの投与をさらに含む、態様３２または３３記載の方法。

〔態様３８〕 前記鎮痛剤が、ＮＳＡＩＤ、オピオイド鎮痛剤、抗体もしくは抗体断片または別の鎮痛生物製剤である、態様３７記載の方法。

〔態様３９〕 前記鎮痛剤がオピオイドであり、この方法を使用して、オピオイドに対する耐性を減少または防止する、態様３８記載の方法。

〔態様４０〕 前記オピオイドがモルヒネまたはモルヒネ誘導体である、態様３８記載の方法。

〔態様４１〕 前記他の鎮痛剤がＮＧＦ抗体または抗体断片である、態様３７記載の方法。

40

〔態様４２〕 ＣＧＲＰを発現する細胞の存在を検出するインビボ画像化法であって、診断上有効な量の少なくとも１つの態様１記載の抗ヒトＣＧＲＰ抗体または抗体断片を投与することを含む、方法。

〔態様４３〕 前記投与が、ＣＧＲＰを発現する疾患部位での抗体の検出を促進する放射性核種またはフルオロフォアの投与をさらに含む、態様４２記載の方法。

〔態様４４〕 結果を使用して、適切な治療レジメンの設計を容易にする、態様４２記載の方法。

〔態様４５〕 配列番号３、１３、２３、３３、４３、５３、６３、７３、８３、９３、１０３、１１３、１２３、もしくは１３３から選択されるＶ_Hポリペプチド配列、また

50

はそれらと少なくとも 90% の配列同一性を示すその変異体；および／または：配列番号 1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121 もしくは 131 から選択される V_L ポリペプチド配列、またはそれらと少なくとも 90% の配列同一性を示すその変異体を含む単離された抗 C G R P 抗体または抗体断片であって、前記 V_H もしくは V_L ポリペプチド中の 1 つ以上のフレームワーク (F R) または C D R 残基が別のアミノ酸残基で置換され、その結果 C G R P に特異的に結合する抗 C G R P 抗体が得られる、単離された抗 C G R P 抗体または抗体断片。

[態様 46] 配列番号 3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123、もしくは 133 から選択される V_H ポリペプチド配列、またはそれらと少なくとも 95% の配列同一性を示すその変異体；および／または配列番号 1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121 もしくは 131 から選択される V_L ポリペプチド配列、またはそれらと少なくとも 90% の配列同一性を示すその変異体を含む単離された抗 C G R P 抗体または抗体断片であって、前記 V_H もしくは V_L ポリペプチド中の 1 つ以上のフレームワーク (F R) または C D R 残基が別のアミノ酸残基と置換され、その結果、C G R P に特異的に結合する抗 C G R P 抗体が得られる、単離された抗 C G R P 抗体または抗体断片。

[態様 47] 1 つ以上の前記 F R 残基が、前記 V_H または V_L ポリペプチド中に含まれる相補性決定領域 (C D R) が由来する親ウサギ抗 C G R P 抗体中の対応する部位で存在するアミノ酸で置換されているか、または保存的アミノ酸置換によって置換されている、態様 45 または 46 記載の単離された抗体または抗体断片。

[態様 48] 前記 V_L ポリペプチド配列の C D R 中の最大で 1 または 2 個の残基が修飾されている、態様 45 または 46 記載の単離された抗体。

[態様 49] 前記 V_H ポリペプチド配列の C D R 中の最大で 1 または 2 個の残基が修飾されている、態様 45 または 46 記載の単離された抗体。

[態様 50] 前記抗体がヒト化である、態様 45 または 46 記載の抗体または抗体断片。

[態様 51] 前記抗体がキメラである、態様 45 または 46 記載の抗体または抗体断片。

[態様 52] 単鎖抗体を含む、態様 45 または 46 記載の抗体または抗体断片。

[態様 53] 前記ヒト化またはキメラ抗体がヒト F c を含む、態様 50 または 51 記載の抗体。

[態様 54] 前記ヒト F c が I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 由来である、態様 53 記載の抗体または抗体断片。

[態様 55] 前記抗体が、C G R P と C G R P R および／またはそのマルチマー、C G R P - C G R P R 複合体中の 1 つ以上のさらなるタンパク質との会合を阻害する、および／またはその生物学的効果を拮抗する、態様 45 ~ 54 のいずれか 1 項に記載の抗体または抗体断片。

[態様 56] 態様 45 または 46 記載のポリペプチド配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも 90% またはそれ以上の相同性を有するポリペプチドを含む、単離された抗 C G R P 抗体または抗体断片。

[態様 57] 態様 45 または 46 記載のポリペプチド配列のいずれか 1 つに対して少なくとも 95% またはそれ以上の相同性を有するポリペプチド配列を含む、単離された抗 C G R P 抗体または抗体断片。

[態様 58] 前記抗体が C G R P と $10^{-4} S^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-5} S^{-1}$ 、 $10^{-5} S^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-6} S^{-1}$ 、 $10^{-6} S^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-7} S^{-1}$ 、または $10^{-7} S^{-1}$ 以下の解離速度 (K_{off}) で結合する、態様 56 記載の抗体または抗体断片。

[態様 59] 前記抗体が、C G R P と C G R P R および／またはそのマルチマーとの複合体の産生、ならびに C G R P と C G R P R および複合体中の 1 つ以上のさらなるタンパク質との産生を阻害する、態様 45 ~ 58 のいずれか 1 項に記載の抗体または抗体断片。

10

20

30

40

50

〔態様60〕 前記断片が、F a b断片、F a b'断片、またはF (a b')₂断片から選択される、態様45～59のいずれか1項に記載の抗体断片。

〔態様61〕 前記抗体または抗体断片がエフェクター部分をさらに含む、態様45～60のいずれか1項に記載の抗体または抗体断片。

〔態様62〕 前記エフェクター部分が検出可能な部分または機能部分である、態様61記載の抗体または抗体断片。

〔態様63〕 前記検出可能な部分が、蛍光色素、酵素、基質、生物発光物質、放射性物質、または化学発光物質である、態様62記載の抗体。

〔態様64〕 前記機能部分が、ストレプトアビジン、アビジン、ビオチン、細胞毒素、細胞毒性薬、または放射性物質である、態様62記載の抗体。

〔態様65〕 C G R Pアンタゴニストの投与によって治療可能な疾患または障害の症状を改善または軽減する方法であって、それを必要とする個体に治療有効量の、態様45～64のいずれか1項に記載のC G R P抗体または抗体断片を投与することを含む、方法。

〔態様66〕 前記疾患がC G R Pの増加と関連する、態様65記載の方法。

〔態様67〕 前記疾患または障害が、偏頭痛（前兆を有する、または有しない）、体重減少、癌または腫瘍、癌または腫瘍成長に伴う血管形成、癌または腫瘍生存に伴う血管形成、片麻痺型偏頭痛、群発性頭痛、偏頭痛様神経痛、慢性頭痛、緊張性頭痛、一般的頭痛、のぼせ、慢性発作性片側頭痛、頭頸部に内在する構造的問題による二次性頭痛、頭蓋神経痛、副鼻腔性頭痛（たとえば副鼻腔炎を伴うものなど）、アレルギー誘発性頭痛または偏頭痛、疼痛、炎症性痛覚、術後創疼痛、複合性局所疼痛症候群、癌性疼痛、原発性もしくは転移性骨癌性疼痛、骨折痛、骨粗鬆症性骨折痛、熱傷に起因する疼痛、骨粗鬆症、痛風性関節痛、鎌状赤血球発症に伴う疼痛、および他の侵害受容性疼痛、ならびに肝細胞癌、乳癌、肝硬変、神経性疼痛、神経因性疼痛、侵害受容性疼痛、三叉神経痛、ヘルペス後神経痛、幻肢痛、線維筋痛、生理痛、卵巣痛、反射性交換神経性ジストロフィー、神経原性疼痛、骨関節炎痛もしくはリウマチ性関節炎痛、腰痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛、または胃食道逆流に関連する内臓痛、消化不良、過敏性腸症候群、炎症性腸疾患、クローン病、回腸炎、潰瘍性大腸炎、腎疝痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、または脾炎から選択される、態様65または66記載の方法。

〔態様68〕 前記状態が、過活動膀胱、疼痛；T M J、顎関節症、慢性痛；神経原性炎症および炎症性痛覚；神経因性疼痛；眼痛；歯痛；手術後の痛み、外傷関連疼痛、糖尿病；非インシュリン依存型糖尿病および他の炎症性自己免疫障害、血管障害；炎症；関節炎；サルコイドーシス、気管支過敏症、喘息；ショック；敗血症；アヘン製剤離脱症候群；モルヒネ耐性；男性および女性におけるのぼせ；アレルギー性皮膚炎；乾癬；脳炎；脳損傷；てんかん；神経変性疾患；掻痒症、神経性皮膚発赤、酒さおよび紅斑を含む皮膚疾患；炎症性腸疾患、過敏性腸症候群、膀胱炎；ならびに月経困難を含む、態様65または66記載の方法。

〔態様69〕 前記疾患または状態が、疼痛、過活動膀胱、頭痛、または偏頭痛である、態様65または66記載の方法。

〔態様70〕 C G R P抗体または抗体断片が、A b 3またはA b 6と同じC D Rを含む、態様65～69のいずれかに記載の方法。

〔態様71〕 別の治療薬の投与を含む疼痛に関連する特定の疾患または状態の治療のための治療レジメンでC G R P抗体または抗体断片を投与する、態様65～69のいずれかに記載の方法。

〔態様72〕 前記他の治療薬が、化学療法薬、鎮痛剤、抗炎症薬、免疫抑制剤、サイトカイン、抗増殖剤、制吐剤および細胞毒素から選択される、態様71記載の方法。

〔態様73〕 前記他の治療薬が鎮痛剤である、態様71記載の方法。

〔態様74〕 前記他の鎮痛剤が、N S A I D、オピオイド鎮痛剤、抗体または非抗体生物製剤である、態様73記載の方法。

〔態様75〕 前記抗体がN G F抗体または抗体断片である、態様74記載の方法。

10

20

30

40

50

〔態様 76〕 前記他の鎮痛剤が、シクロオキシゲナーゼ 1 および / またはシクロオキシゲナーゼ 2 阻害剤である NSAID である、態様 73 記載の方法。

〔態様 77〕 NSAID が、(1) イブプロフェン、ナプロキセン、ナプロシン、ジクロフェナック、およびケトプロフェンをはじめとするプロピオン酸誘導体；(2) トルメチンおよびスリダックをはじめとする酢酸誘導体；(3) メフェナム酸およびメクロフェナム酸をはじめとするフェナム酸誘導体；(4) ジフルニサルおよびフルフェニサルをはじめとするビフェニルカルボン酸誘導体；ならびに(5) ピロキシム (piroxim)、スドキシカム、およびイソキシカムをはじめとするオキシカムから選択される、態様 76 記載の方法。

〔態様 78〕 前記他の鎮痛剤が、フェナントレン；フェニルヘブチルアミン；フェニルピペリジン；モルフィナン；またはベンゾモルファン化合物である、態様 73 記載の方法。

10

〔態様 79〕 前記他の鎮痛剤が、コデイン、ジヒドロコデイン、ジアセチルモルヒネ、ヒドロコドン、ヒドロモルホン、レボルファノール、オキシモルフォン、アルフェentanil、ブプレノルフィン、ブトルファノール、フェンタニール、スフェンタニール、メペリジン、メタドン、ナルブフィン、プロボキシフェンおよびペンタゾシンから選択されるオピオイド鎮痛剤またはその薬剂的に許容される塩である、態様 73 記載の方法。

〔態様 80〕 前記オピオイド鎮痛剤および CGRP 抗体または抗体断片の併用投与が、それによって惹起される鎮痛効果を増大させる、および / または鎮痛剤に対する耐性を軽減する、請求項 78 または 79 記載の方法。

20

〔態様 81〕 前記オピオイド鎮痛剤がモルヒネまたはモルヒネ誘導体もしくはその薬剂的に許容される塩である、態様 79 記載の方法。

〔態様 82〕 培養培地中に少なくとも 10 ~ 25 mg / リットルの前記抗体を安定して発現し、分泌する倍数体酵母培養物において態様 45 記載の抗体または抗体断片を作成する方法であって：

(i) プロモーターおよびシグナル配列に機能的に連結された前記抗体をコード化する 1 つ以上の異種性ポリヌクレオチドを含む少なくとも 1 つの発現ベクターを一倍体酵母細胞に導入し；

(ii) 前記第 1 および / または第 2 一倍体酵母細胞から多倍数体性酵母を交配またはスフェロプラスト融合によって産生し；

30

(iii) 前記抗体を安定して発現する多倍数体性酵母細胞を選択し；そして

(iv) 前記抗体を培養培地中へ安定して発現する前記多倍数体性酵母細胞から安定な多倍数体性酵母培養物を産生する

ことを含む、方法。

〔態様 83〕 前記酵母属がピキアである、態様 82 記載の方法。

〔態様 84〕 前記ピキア種が、ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*)、ピキア・メタノリカ (*Pichia methanolica*) またはハンセヌラ・ポリモルファ (*Hansenula polymorpha*) (ピキア・アングスタ (*Pichia angusta*)) から選択される、態様 83 記載の方法。

〔態様 85〕 前記ピキア種がピキア・パストリスである、態様 83 記載の方法。

〔態様 86〕 配列番号 3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123 もしくは 133 から選択される抗 CGRP V_H 抗体アミノ酸配列をコード化するか、またはそれらと少なくとも 90% の配列同一性を示すそれらの変異体をコード化するポリヌクレオチドを含む、単離されたポリヌクレオチド。

40

〔態様 87〕 ポリヌクレオチド配列が、少なくとも 1 つのフレームワーク残基 (FR 残基) がウサギ抗 CGRP 抗体 V_H ポリペプチド中の対応する位置で存在するアミノ酸で、または保存的アミノ酸置換により置換された抗 CGRP V_H 抗体アミノ酸配列をコード化する、請求項 86 記載の単離されたポリヌクレオチド。

〔態様 88〕 態様 86 または 87 記載のポリヌクレオチド配列を含むベクターまたは宿主細胞。

〔態様 89〕 前記宿主細胞がピキア属に属する酵母細胞である、態様 88 記載の宿主

50

細胞。

〔態様 9 0〕 前記異種性ポリヌクレオチドが、配列番号 1、1 1、2 1、3 1、4 1、5 1、6 1、7 1、8 1、9 1、1 0 1、1 1 1、1 2 1 もしくは 1 3 1 から選択される抗 C G R P V_L アミノ酸配列をコード化するポリヌクレオチド配列、またはそれらと少なくとも 9 0 % の配列同一性を示すその変異体をコード化するポリヌクレオチドをさらに含む、態様 8 2 記載の方法。

〔態様 9 1〕 抗 C G R P V_L 抗体アミノ酸配列をコード化するポリヌクレオチド配列が、ウサギ抗 C G R P 抗体 V_L ポリペプチド中の対応する位置で存在するアミノ酸で、または保存的アミノ酸置換によって置換された少なくとも 1 つのフレームワーク残基 (F R 残基) を含む、態様 9 0 記載の方法。

10

〔態様 9 2〕 配列番号 1、1 1、2 1、3 1、4 1、5 1、6 1、7 1、8 1、9 1、1 0 1、1 1 1、1 2 1 もしくは 1 3 1 から選択される抗 C G R P V_L 抗体アミノ酸配列をコード化するか、またはそれらと少なくとも 9 0 % の配列同一性を示す変異体をコード化するポリヌクレオチド配列を含む、単離されたポリヌクレオチド。

〔態様 9 3〕 抗 C G R P V_L 抗体アミノ酸配列をコード化するポリヌクレオチド配列が、ウサギ抗 C G R P 抗体 V_L ポリペプチド中の対応する位置で存在するアミノ酸で、または保存的アミノ酸置換によって置換された少なくとも 1 つのフレームワーク残基 (F R 残基) を含む、態様 9 2 記載の単離されたポリヌクレオチド。

〔態様 9 4〕 態様 9 2 または 9 3 記載のポリヌクレオチド配列を含むベクター。

〔態様 9 5〕 態様 9 4 記載のベクターを含む宿主細胞。

20

〔態様 9 6〕 前記宿主細胞がピキア属に属する酵母細胞である、態様 9 5 記載の宿主細胞。

〔態様 9 7〕 前記異種性ポリヌクレオチドが、配列番号 1 および配列番号 3 ; 配列番号 1 1 および配列番号 1 3 ; 配列番号 2 1 および配列番号 2 3 ; 配列番号 3 1 および配列番号 3 3 ; 配列番号 4 1 および配列番号 4 3 ; 配列番号 5 1 および配列番号 5 3、配列番号 6 1 および配列番号 6 3 ; 配列番号 7 1 および配列番号 7 3 ; 配列番号 8 1 および配列番号 8 3 ; 配列番号 9 1 および配列番号 9 3 ; 配列番号 1 0 1 および配列番号 1 0 3 ; 配列番号 1 1 1 および配列番号 1 1 3 ; 配列番号 1 2 1 および配列番号 1 2 3 ; または配列番号 1 3 1 および配列番号 1 3 3 中に含まれるポリペプチドをコード化する配列を含む、態様 9 0 記載の方法。

30

〔態様 9 8〕 態様 9 2 もしくは 9 7 記載のポリヌクレオチド配列のうちの 1 つによってコード化される配列を含む抗体または抗体断片と同一の、もしくは重複する C G R P エピトープと結合する、および / または C G R P との結合について抗 C G R P 抗体と競合する、抗 C G R P 抗体または抗体断片。

〔態様 9 9〕 A b 1、A b 2、A b 3、A b 4、A b 5、A b 6、A b 7、A b 8、A b 9、A b 1 0、A b 1 1、A b 1 2、A b 1 3 または A b 1 4 から選択される抗 C G R P 抗体と同一または重複する C G R P エピトープと結合する、態様 9 8 記載の抗 C G R P 抗体または抗体断片。

〔態様 1 0 0〕 配列番号 3、1 3、2 3、3 3、4 3、5 3、6 3、7 3、8 3、9 3、1 0 3、1 1 3、1 2 3、もしくは 1 3 3 から選択される V_H ポリペプチド配列中に含まれる 1 つ以上の C D R および / または配列番号 1、1 1、2 1、3 1、4 1、5 1、6 1、7 1、8 1、9 1、1 0 1、1 1 1、1 2 1 もしくは 1 3 1 から選択される V_L ポリペプチド配列中に含まれる 1 つ以上の C D R を含む、単離された抗 C G R P 抗体または抗体断片。

40

〔態様 1 0 1〕 配列番号 3、1 3、2 3、3 3、4 3、5 3、6 3、7 3、8 3、9 3、1 0 3、1 1 3、1 2 3、もしくは 1 3 3 から選択される V_H ポリペプチド配列中に含まれる少なくとも 2 つの C D R および / または配列番号 1、1 1、2 1、3 1、4 1、5 1、6 1、7 1、8 1、9 1、1 0 1、1 1 1、1 2 1 もしくは 1 3 1 から選択される V_L ポリペプチド配列中に含まれる少なくとも 2 つの C D R を含む、態様 1 0 0 記載の単離された抗 C G R P 抗体または抗体断片。

50

〔態様１０２〕 配列番号３、１３、２３、３３、４３、５３、６３、７３、８３、９３、１０３、１１３、１２３、もしくは１３３から選択される V_H ポリペプチド配列中に含まれる３つのＣＤＲすべておよび／または配列番号１、１１、２１、３１、４１、５１、６１、７１、８１、９１、１０１、１１１、１２１もしくは１３１から選択される V_L ポリペプチド配列中に含まれる３つのＣＤＲすべてを含む、態様１０１記載の単離された抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片。

〔態様１０３〕 前記抗体または抗体断片がヒト化である、態様９９、１００、１０１または１０２記載の抗体または抗体断片。

〔態様１０４〕 前記抗体がキメラである、態様９９、１００、１０１または１０２記載の抗体。

〔態様１０５〕 前記キメラ抗体がヒト F_c を含む、態様１０４記載の抗体。

〔態様１０６〕 単鎖抗体を含む、態様９９、１００、１０１、または１０２記載の抗体。

〔態様１０７〕 一価抗体分子を含む、態様９９または１００記載の抗体。

〔態様１０８〕 前記ヒト F_c が、ヒト $IgG1$ 、 $IgG2$ 、 $IgG3$ 、または $IgG4$ から誘導される、態様１０５記載の抗体。

〔態様１０９〕 態様１００または１０１記載のポリペプチド配列のいずれか１つと少なくとも９０％またはそれ以上の相同性を有する V_L または V_H ポリペプチド配列を含む、単離された抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片。

〔態様１１０〕 前記抗体が $CGRP$ と $10^{-4} S^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-5} S^{-1}$ 、 $10^{-5} S^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-6} S^{-1}$ 、 $10^{-6} S^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-7} S^{-1}$ 、または $10^{-7} S^{-1}$ 以下の解離速度(k_{off})で結合する、態様１０９記載の抗体または抗体断片。

〔態様１１１〕 前記抗体が、 $CGRP$ と $CGRP_R$ および／もしくはそのマルチマーとの会合、または $CGRP$ とその受容体($CGRP_R$)および複合体中の１つ以上のさらなるタンパク質との会合を阻害する、態様９９～１１０のいずれか１項に記載の抗体または抗体断片。

〔態様１１２〕 前記断片が、 Fab 断片、 Fab' 断片、または $F(ab')_2$ 断片から選択される、態様９９～１１０のいずれか１項に記載の抗体断片。

〔態様１１３〕 前記抗体がエフェクター部分をさらに含む、態様９９～１１０のいずれか１項に記載の抗体または抗体断片。

〔態様１１４〕 前記エフェクター部分が検出可能な部分または機能部分である、態様１１３記載の抗体。

〔態様１１５〕 前記検出可能な部分が、蛍光色素、酵素、基質、生物発光物質、放射性物質、または化学発光物質である、態様１１４記載の抗体。

〔態様１１６〕 前記機能部分が、ストレプトアビジン、アビジン、ビオチン、細胞毒素、細胞毒性薬、または放射性物質である、態様１１４記載の抗体。

〔態様１１７〕 $CGRP$ アンタゴニストの投与によって治療可能な疾患または障害の症状を改善または軽減する方法であって、それを必要とする患者に、有効量の態様９９～１１６のいずれか１項に記載の抗体または抗体断片を投与することを含む、方法。

〔態様１１８〕 前記疾患または障害が、増大した $CGRP$ と関連する、態様１１７記載の方法。

〔態様１１９〕 前記疾患または障害が、偏頭痛（前兆を有する、または有しない）、体重減少、癌または腫瘍、癌または腫瘍成長に伴う血管形成、癌または腫瘍生存に伴う血管形成、片麻痺型偏頭痛、群発性頭痛、偏頭痛様神経痛、慢性頭痛、緊張性頭痛、一般的頭痛、のぼせ、慢性発作性片側頭痛、頭頸部に内在する構造的問題による二次性頭痛、頭蓋神経痛、副鼻腔性頭痛（たとえば副鼻腔炎を伴うものなど）、アレルギー誘発性頭痛または偏頭痛、疼痛、炎症性痛覚、術後創疼痛、複合性局所疼痛症候群、癌性疼痛、原発性もしくは転移性骨癌性疼痛、骨折痛、骨粗鬆症性骨折痛、熱傷に起因する疼痛、骨粗鬆症、痛風性関節痛、鎌状赤血球発症に伴う疼痛、および他の侵害受容性疼痛、ならびに肝細胞癌、乳癌、肝硬変、神経性疼痛、神経因性疼痛、侵害受容性疼痛、三叉神経痛、ヘルペ

10

20

30

40

50

ス後神経痛、幻肢痛、線維筋痛、生理痛、卵巣痛、反射性交換神経性ジストロフィー、神経原性疼痛、骨関節炎痛もしくはリウマチ性関節炎痛、腰痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛、または胃食道逆流に関連する内臓痛、消化不良、過敏性腸症候群、炎症性腸疾患、クローン病、回腸炎、潰瘍性大腸炎、腎臓痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、または膀胱炎から選択される、態様 1 1 8 記載の方法。

〔態様 1 2 0〕 前記状態が、過活動膀胱、疼痛；慢性痛；神経原性炎症および炎症性痛覚；神経因性疼痛；眼痛；歯痛；手術後の痛み、外傷関連疼痛、糖尿病；非インシュリン依存型糖尿病および他の炎症性自己免疫障害、血管障害；炎症；関節炎；気管支過敏症、喘息；ショック；敗血症；アヘン製剤離脱症候群；モルヒネ耐性；男性および女性におけるのぼせ；アレルギー性皮膚炎；乾癬；脳炎；脳損傷；てんかん；神経変性疾患；掻痒症、神経性皮膚発赤、酒さおよび紅斑をはじめとする皮膚疾患；炎症性腸疾患、過敏性腸症候群、膀胱炎；ならびに月経困難を含む、態様 1 1 8 記載の方法。

10

〔態様 1 2 1〕 前記状態または障害が、偏頭痛、過活動膀胱、疾患もしくは状態と関連する疼痛、またはオピオイド鎮痛剤耐性である、態様 1 1 8 記載の方法。

〔態様 1 2 2〕 別の治療薬の投与を含む疼痛に関連する特定の疾患または状態の治療のための治療レジメンで、CGRP 抗体または抗体断片が投与される、態様 1 1 8 記載の方法。

〔態様 1 2 3〕 前記他の治療薬が、化学療法薬、鎮痛剤、抗炎症薬、免疫抑制剤、サイトカイン、抗増殖剤、制吐剤および細胞毒素から選択される、態様 1 2 2 記載の方法。

〔態様 1 2 4〕 前記他の治療薬が鎮痛剤である、態様 1 2 2 記載の方法。

20

〔態様 1 2 5〕 前記他の鎮痛剤が、NSAID、オピオイド鎮痛剤、抗体または非抗体生物製剤である、態様 1 2 2 記載の方法。

〔態様 1 2 6〕 前記抗体がNGF 抗体または抗体断片である、態様 1 2 5 記載の方法。

〔態様 1 2 7〕 前記他の鎮痛剤が、シクロオキシゲナーゼ 1 および / またはシクロオキシゲナーゼ 2 阻害剤を含む NSAID である、態様 1 2 5 記載の方法。

〔態様 1 2 8〕 前記 NSAID が、(1) イブプロフェン、ナプロキセン、ナプロシン、ジクロフェナック、およびケトプロフェンをはじめとするプロピオン酸誘導体；(2) トルメチンおよびスリンダックをはじめとする酢酸誘導体；(3) メフェナム酸およびメクロフェナム酸をはじめとするフェナム酸誘導体；(4) ジフルニサルおよびフルフェニサルをはじめとするピフェニルカルボン酸誘導体；ならびに(5) ピロキシム、スドキシカム、およびイソキシカムをはじめとするオキシカムから選択される、態様 1 2 7 記載の方法。

30

〔態様 1 2 9〕 前記他の鎮痛剤が、フェナントレン；フェニルヘプチルアミン；フェニルピペリジン；モルフィナン；またはベンゾモルファン化合物である、態様 1 2 4 記載の方法。

〔態様 1 3 0〕 前記他の鎮痛剤が、コデイン、ジヒドロコデイン、ジアセチルモルヒネ、ヒドロコドン、ヒドロモルホン、レボルファノール、オキシモルフォン、アルフェンタニル、ブプレノルフィン、ブトルファノール、フェンタニール、スフェンタニル、メペリジン、メタドン、ナルブフィン、プロポキシフェンおよびペンタゾシンまたはそれらの薬剂的に許容される塩から選択されるオピオイド鎮痛剤である、態様 1 2 4 記載の方法。

40

〔態様 1 3 1〕 前記鎮痛剤および CGRP 抗体または抗体断片の併用投与が、それによって惹起される鎮痛効果を増大させる、および / または鎮痛剤に対する耐性を軽減する、態様 1 2 9 または 1 3 0 記載の方法。

〔態様 1 3 2〕 前記鎮痛剤がモルヒネまたはモルヒネ誘導体またはその薬剂的に許容される塩である、態様 1 3 1 記載の方法。

〔態様 1 3 3〕 態様 9 8 ~ 1 1 6 のいずれか 1 項に記載の抗体を、安定して発現し、培養培地中に少なくとも 1 0 ~ 2 5 m g / リットルの前記抗体を分泌する倍数体酵母培養で作成する方法であって：

(i) プロモーターに機能的に連結された前記抗体をコード化する 1 つ以上の異種性ポリ

50

ヌクレオチドおよびシグナル配列を含む少なくとも 1 つの発現ベクターを一倍体酵母細胞中に導入し；

(i i) 多倍数体性酵母を前記第 1 および / または第 2 一倍体酵母細胞から交配またはスフェロプラスト融合によって產生し；

(i i i) 前記抗体を安定して発現する多倍数体性酵母細胞を選択し；そして

(i v) 安定な多倍数体性酵母培養を、少なくとも 1 0 ~ 2 5 m g / リットルの前記抗体を安定して発現する前記多倍数体性酵母細胞から培養培地へ產生する

ことを含む、方法。

[態様 1 3 4] 前記酵母属がピキアである、態様 1 3 3 記載の方法。

[態様 1 3 5] 前記ピキア種が、ピキア・パストリス、ピキア・メタノリカまたはハンセンラ・ポリモルファ (ピキア・アングスタ) から選択される、態様 1 3 4 記載の方法。

[態様 1 3 6] 前記ピキアの種がピキア・パストリスである、態様 1 3 5 記載の方法。

[態様 1 3 7] 抗 C G R P 抗体由来の少なくとも 1 つの C D R ポリペプチドを含むポリペプチドを発現する単離されたポリヌクレオチドであって、前記発現されたポリペプチドのみで C G R P と特異的に結合するか、または抗 C G R P 抗体由来の少なくとも 1 つの C D R ポリペプチドを含むポリペプチドを発現する別のポリヌクレオチド配列と伴って発現される場合に C G R P と特異的に結合し、前記少なくとも 1 つの C D R が、配列番号 1、3、11、13、21、23、31、33、41、43、51、53、61、63、71、73、81、83、91、93、101、103、111、113、121、123、131 または 133 の V_L または V_H ポリペプチドに含まれるものから選択される、単離されたポリヌクレオチド。

[態様 1 3 8] 抗 C G R P 抗体由来の 2 または 3 の C D R ポリペプチドを含むポリペプチドを発現する態様 1 3 7 記載の単離されたポリヌクレオチドであって、前記発現されたポリペプチドのみで C G R P と特異的に結合するか、または抗 C G R P 抗体由来の 2 または 3 の C D R ポリペプチドを含むポリペプチドを発現する別のポリヌクレオチド配列と伴って発現される場合に C G R P と特異的に結合し、前記 C D R ポリペプチドが、配列番号 1、3、11、13、21、23、31、33、41、43、51、53、61、63、71、73、81、83、91、93、101、103、111、113、121、123、131 または 133 の V_L もしくは V_H ポリペプチドに含まれるものから選択される、ポリヌクレオチド。

[態様 1 3 9] 態様 1 3 7 または 1 3 8 記載の少なくとも 1 つのポリヌクレオチド配列を含むベクター。

[態様 1 4 0] 態様 1 3 9 記載のベクターを含む宿主細胞。

[態様 1 4 1] 前記宿主細胞がピキア属に属する酵母細胞である、態様 1 4 0 記載の宿主細胞。

[態様 1 4 2] 前記異種性ポリヌクレオチドが、配列番号 1、3、11、13、21、23、31、33、41、43、51、53、61、63、71、73、81、83、91、93、101、103、111、113、121、123、131 または 133 から選択される V_L もしくは V_H ポリペプチドに含まれる少なくとも 1 つの C D R をコード化するポリヌクレオチド配列を含む、態様 1 3 3 記載の方法。

[態様 1 4 3] 態様 1 ~ 2 2 または 9 9 ~ 1 1 6 のいずれか 1 項に記載の少なくとも 1 つの C G R P 抗体または断片および薬剂的に許容される担体を含む、医薬または診断組成物。

[態様 1 4 4] 少なくとも 1 つの安定剤をさらに含む、態様 1 4 3 の医薬または診断組成物。

[態様 1 4 5] 凍結乾燥される、態様 1 4 3 もしくは 1 4 4 記載の医薬または診断組成物。

[態様 1 4 6] A b 1、A b 2、A b 3、A b 4、A b 5、A b 6、A b 7、A b 8

10

20

30

40

50

、A b 9、A b 10、A b 11、A b 12、A b 13またはA b 14から選択される1つ以上の抗CGRP抗体、あるいはキメラもしくはヒト化抗体、またはそれから誘導される断片を含む、請求項143もしくは144記載の医薬もしくは診断組成物。

〔態様147〕 抗CGRP抗体またはA b 2から選択される断片またはキメラもしくはヒト化抗体、またはそれから誘導される断片を含む、態様143もしくは144記載の医薬または診断組成物。

〔態様148〕 抗CGRP抗体またはA b 3から選択される断片あるいはキメラもしくはヒト化抗体、またはそれから誘導される断片を含む、態様143または144記載の医薬もしくは診断組成物。

〔態様149〕 抗CGRP抗体またはA b 6から選択される断片またはキメラもしくはヒト化抗体、またはそれから誘導される断片を含む、態様143または144記載の医薬もしくは診断組成物。

〔態様150〕 治療有効量の態様143～149のいずれか1項に記載の医薬組成物を投与することを含む、G R Pアンタゴニストの投与によって治療可能または予防可能な疾患または状態を治療する方法。

〔態様151〕 前記疾患が、偏頭痛（前兆を有する、または有しない）、体重減少、癌または腫瘍、癌または腫瘍成長に伴う血管形成、癌または腫瘍生存に伴う血管形成、片麻痺型偏頭痛、群発性頭痛、偏頭痛様神経痛、慢性頭痛、緊張性頭痛、一般的頭痛、のぼせ、慢性発作性片側頭痛、頭頸部に内在する構造的問題による二次性頭痛、頭蓋神経痛、副鼻腔性頭痛（たとえば副鼻腔炎を伴うものなど）、アレルギー誘発性の頭痛もしくは偏頭痛、疼痛、炎症性痛覚、術後創疼痛、複合性局所疼痛症候群、癌性疼痛、原発性もしくは転移性骨癌性疼痛、骨折疼痛、骨粗鬆症性骨折痛、熱傷に起因する疼痛、骨粗鬆症、痛風性関節痛、鎌状赤血球発症に伴う疼痛、および他の侵害受容性疼痛、ならびに肝細胞癌、乳癌、肝硬変、神経性疼痛、神経因性疼痛、侵害受容性疼痛、三叉神経痛、ヘルペス後神経痛、幻肢痛、線維筋痛、生理痛、卵巣痛、反射性交換神経性ジストロフィー、神経原性疼痛、骨関節炎痛もしくはリウマチ性関節炎痛、腰痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛、または胃食道逆流に関連する内臓痛、消化不良、過敏性腸症候群、炎症性腸疾患、クローン病、回腸炎、潰瘍性大腸炎、腎疝痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、または膵炎から選択される、態様150記載の方法。

〔態様152〕 前記疾患が、疼痛、疼痛を伴う障害、過活動膀胱、頭痛、または偏頭痛である、態様150記載の方法。

〔態様153〕 前記状態が、過活動膀胱、疼痛；慢性痛；神経原性炎症および炎症性痛覚；神経因性疼痛；眼痛；歯痛；手術後の痛み、外傷関連疼痛、糖尿病；非インシュリン依存型糖尿病および他の炎症性自己免疫障害、血管障害；炎症；関節炎；気管支過敏症、喘息；ショック；敗血症；アヘン製剤離脱症候群；モルヒネ耐性；男性および女性におけるのぼせ；アレルギー性皮膚炎；乾癬；脳炎；脳損傷；てんかん；神経変性疾患；掻痒症、神経性皮膚発赤、酒さおよび紅斑をはじめとする皮膚疾患；炎症性腸疾患、過敏性腸症候群、膀胱炎；ならびに月経困難を含む、態様150記載の方法。

〔態様154〕 前記状態または障害が、偏頭痛、過活動膀胱、疾患もしくは状態に関連する疼痛、またはオピオイド鎮痛剤耐性である、態様150記載の方法。

〔態様155〕 C G R P抗体または抗体断片を、別の治療薬の投与を含む疼痛に関連する特定の疾患または状態の治療のための治療的レジメンで投与する、態様150記載の方法。

〔態様156〕 前記他の治療薬が、化学療法薬、鎮痛剤、抗炎症薬、免疫抑制剤、サイトカイン、抗増殖剤、制吐剤および細胞毒素から選択される、態様155記載の方法。

〔態様157〕 前記他の治療薬が鎮痛剤である、態様155記載の方法。

〔態様158〕 前記他の鎮痛剤がN S A I D、オピオイド鎮痛剤、抗体または非抗体生物製剤である、態様157記載の方法。

〔態様159〕 前記抗体がN G F抗体または抗体断片である、態様158記載の方法。

〔態様160〕 前記他の鎮痛剤が、シクロオキシゲナーゼ1および/またはシクロオキシゲナーゼ2阻害剤を含むNSAIDである、態様157記載の方法。

〔態様161〕 前記NSAIDが、(1)イブプロフェン、ナプロキセン、ナプロシン、ジクロフェナック、およびケトプロフェンを含むプロピオン酸誘導体；(2)トルメチンおよびスリダックを含む酢酸誘導体；(3)メフェナム酸およびメクロフェナム酸を含むフェナム酸誘導体；(4)ジフルニサルおよびフルフェニサルを含むビフェニルカルボン酸誘導体；ならびに(5)ピロキシム、スドキシカム、およびイソキシカムを含むオキシカムから選択される、態様160記載の方法。

〔態様162〕 前記他の鎮痛剤が、フェナントレン；フェニルヘプチルアミン；フェニルピペリジン；モルフィナン；またはベンゾモルファン化合物である、態様157記載の方法。

10

〔態様163〕 前記他の鎮痛剤が、コデイン、ジヒドロコデイン、ジアセチルモルヒネ、ヒドロコドン、ヒドロモルホン、レボルファノール、オキシモルフォン、アルフェンタニル、ブプレノルフィン、ブトルファノール、フェンタニール、スフェンタニル、メペリジン、メタドン、ナルブフィン、プロボキシフェンおよびペンタゾシンまたはそれらの薬剂的に許容される塩から選択されるオピオイド鎮痛剤である、態様157記載の方法。

〔態様164〕 前記オピオイド鎮痛剤およびCGRP抗体または抗体断片の併用投与が、それによって惹起される鎮痛効果を増加する、および/またはオピオイド鎮痛剤に対する耐性を軽減する、態様162または163記載の方法。

〔態様165〕 前記オピオイド鎮痛剤がモルヒネまたはモルヒネ誘導体またはその薬剂的に許容される塩である、態様164記載の方法。

20

〔態様166〕 診断上有効な量の、態様143～149のいずれか1項に記載の診断組成物を投与すること含む、CGRPを発現する細胞の存在を検出するインビボ画像化法。

〔態様167〕 偏頭痛（前兆を有する、または有しない）、体重減少、癌または腫瘍、癌または腫瘍成長に伴う血管形成、癌または腫瘍生存に伴う血管形成、片麻痺型偏頭痛、群発性頭痛、偏頭痛様神経痛、慢性頭痛、緊張性頭痛、一般的頭痛、のぼせ、慢性発作性片側頭痛、頭頸部に内在する構造的問題による二次性頭痛、頭蓋神経痛、副鼻腔性頭痛（たとえば副鼻腔炎を伴うものなど）、アレルギー誘発性の頭痛もしくは偏頭痛、疼痛、炎症性痛覚、術後創疼痛、複合性局所疼痛症候群、癌性疼痛、原発性もしくは転移性骨癌性疼痛、骨折痛、骨粗鬆症性骨折痛、熱傷に起因する疼痛、骨粗鬆症、痛風性関節痛、鎌状赤血球発症に伴う疼痛、および他の侵害受容性疼痛、ならびに肝細胞癌、乳癌、肝硬変、神経性疼痛、神経因性疼痛、侵害受容性疼痛、三叉神経痛、ヘルペス後神経痛、幻肢痛、線維筋痛、生理痛、卵巣痛、反射性交換神経性ジストロフィー、神経原性疼痛、骨関節炎痛もしくはリウマチ性関節炎痛、腰痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛、または胃食道逆流に関連する内臓痛、消化不良、過敏性腸症候群、炎症性腸疾患、クローン病、回腸炎、潰瘍性大腸炎、腎臓痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、または肺炎のための有効な治療プロトコルの設計のための計画レジメンの一部として使用される、態様166の方法。

30

〔態様168〕 前記治療プロトコルが、1つ以上の抗ヒスタミン剤、抗炎症薬、または抗生物質を含む、態様167記載の方法。

40

〔態様169〕 前記抗体が態様1～22または98～116のいずれか1項に記載の抗CGRP抗体または断片を含む、態様168記載の方法。

〔態様170〕 前記抗体断片が、scFv、キャメルボディ、ナノボディ、IgNAR、SMIP、またはそれらの組み合わせ、トランケーションもしくは修飾物から選択される単鎖抗体である、態様169記載の抗体。

〔態様171〕 CGRPと結合し、CGRPとCGRP Rとの会合を阻害し、その生物学的効果を拮抗する、単離された抗CGRP抗体。

〔態様172〕 前記抗体が、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab13、またはAb14から選択される、態様171記載の単離された抗CGRP抗体。

50

〔態様１７３〕 ＣＧＲＰとＣＧＲＰ Ｒとの会合を阻害し、その生物学的効果を拮抗する、単離された抗ＣＧＲＰ抗体断片。

〔態様１７４〕 前記抗体断片がＡｂ２、Ａｂ３、Ａｂ５、Ａｂ６、Ａｂ１３もしくはＡｂ１４と同じエピトープと結合する、態様１７３記載の単離された抗ＣＧＲＰ断片。

〔態様１７５〕 前記抗体がＡｂ３、Ａｂ６、Ａｂ１３またはＡｂ１４またはその断片である、態様１７４記載の単離された抗ＣＧＲＰ抗体または断片。

〔態様１７６〕 Ａｂ３、Ａｂ６、Ａｂ１３またはＡｂ１４と同じＣＤＲを含む、態様１７４記載の単離された抗ＣＧＲＰ抗体または断片。

〔態様１７７〕 ＣＧＲＰとＣＧＲＰ Ｒとの会合を阻害する、有効量の抗ＣＧＲＰ抗体またはその断片を投与することを含む、疼痛を治療する方法。

10

〔態様１７８〕 前記抗体がＡｂ３、Ａｂ６、Ａｂ１３またはＡｂ１４またはその断片である、態様１７７記載の方法。

〔態様１７９〕 前記抗体がＡｂ３、Ａｂ６、Ａｂ１３またはＡｂ１４と同じＣＤＲを含む、態様１７７記載の方法。

〔態様１８０〕 前記疼痛が、筋骨格系への外傷、熱傷、または手術前または手術後に伴うか、あるいは胃食道逆流、消化不良、過敏性腸症候群、炎症性腸疾患、クローン病、回腸炎、潰瘍性大腸炎、腎臓痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、乾癬、ＩＢＤ、または膵炎に伴う内臓痛である、態様１７７記載の方法。

〔態様１８１〕 前記抗体がＡｂ３、Ａｂ６、Ａｂ１３もしくはＡｂ１４であるか、または抗体断片がＡｂ３、Ａｂ６、Ａｂ１３もしくはＡｂ１４から誘導される、態様１８０記載の方法。

20

〔態様１８２〕 前記抗体または抗体断片がＡｂ３、Ａｂ６、Ａｂ１３またはＡｂ１４と同じＣＤＲを含む、態様１８０記載の方法。

〔態様１８３〕 ＣＧＲＰとＣＧＲＰ Ｒとの会合を阻害する、有効量の抗ＣＧＲＰ抗体またはその断片を投与することを含む、偏頭痛を治療する方法。

〔態様１８４〕 前記抗体がＡｂ２、Ａｂ３、Ａｂ５、Ａｂ６、Ａｂ１３もしくはＡｂ１４であるか、または抗体断片がＡｂ２、Ａｂ３、Ａｂ５、Ａｂ６、Ａｂ１３もしくはＡｂ１４から誘導される、態様１８３記載の方法。

〔態様１８５〕 ＣＧＲＰとＣＧＲＰ Ｒとの会合を阻害する、有効量の抗ＣＧＲＰ抗体またはその断片を投与することを含む、非偏頭痛性頭痛を治療する方法。

30

〔態様１８６〕 前記抗体がＡｂ２、Ａｂ３、Ａｂ５、Ａｂ６、Ａｂ１３もしくはＡｂ１４であるか、または抗体断片がＡｂ２、Ａｂ３、Ａｂ５、Ａｂ６、Ａｂ１３もしくはＡｂ１４から誘導される、態様１８５記載の方法。

〔態様１８７〕 前記抗体または抗体断片がＡｂ２、Ａｂ３、Ａｂ５、Ａｂ６、Ａｂ１３またはＡｂ１４と同じＣＤＲを含む、態様１８５記載の方法。

〔態様１８８〕 ＣＧＲＰに対する結合特異性を有し、以下のものから選択される可変軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３ポリペプチド配列ならびに可変重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３ポリペプチド配列を含む、抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片：

【表 1 a】

	V _L C DR 1	V _L C DR 2	V _L C DR 3	V _H C DR 1	V _H C DR 2	V _H C DR 3
A	配列番号 5	配列番号 6	配列番号 7	配列番号 8	配列番号 9	配列番号 10
B	配列番号 15	配列番号 16	配列番号 17	配列番号 18	配列番号 19	配列番号 20
C	配列番号 25	配列番号 26	配列番号 27	配列番号 28	配列番号 29	配列番号 30
D	配列番号 35	配列番号 36	配列番号 37	配列番号 38	配列番号 39	配列番号 40
E	配列番号 45	配列番号 46	配列番号 47	配列番号 48	配列番号 49	配列番号 50
F	配列番号 55	配列番号 56	配列番号 57	配列番号 58	配列番号 59	配列番号 60
G	配列番号 65	配列番号 66	配列番号 67	配列番号 68	配列番号 69	配列番号 70
H	配列番号 75	配列番号 76	配列番号 77	配列番号 78	配列番号 79	配列番号 80
I	配列番号 85	配列番号 86	配列番号 87	配列番号 88	配列番号 89	配列番号 90
J	配列番号 95	配列番号 96	配列番号 97	配列番号 98	配列番号 99	配列番号 100
K	配列番号 105	配列番号 106	配列番号 107	配列番号 108	配列番号 109	配列番号 110
L	配列番号 115	配列番号 116	配列番号 117	配列番号 118	配列番号 119	配列番号 120
M	配列番号 125	配列番号 126	配列番号 127	配列番号 128	配列番号 129	配列番号 130
N	配列番号 135	配列番号 136	配列番号 137	配列番号 138	配列番号 139	配列番号 140

10

20

30

。

【態様 189】 前記抗体断片が、s c F v、キャメルボディ、ナノボディ、I g N A R（サメ由来の単鎖抗体）、F a b、F a b'、または F（a b'）2断片である、態様 188 記載の抗 C G R P 抗体または抗体断片。

【態様 190】 前記抗体断片が F a b 断片である、態様 188 記載の抗 C G R P 抗体断片。

【態様 191】 以下から選択される、可変軽鎖ポリペプチド配列および可変重鎖ポリペプチド配列を含む態様 188 に記載の抗 C G R P 抗体または抗体断片：

40

【表 2 a】

	可変軽鎖	可変重鎖
A	配列番号 1	配列番号 3
B	配列番号 1 1	配列番号 1 3
C	配列番号 2 1	配列番号 2 3
D	配列番号 3 1	配列番号 3 3
E	配列番号 4 1	配列番号 4 3
F	配列番号 5 1	配列番号 5 3
G	配列番号 6 1	配列番号 6 3
H	配列番号 7 1	配列番号 7 3
I	配列番号 8 1	配列番号 8 3
J	配列番号 9 1	配列番号 9 3
K	配列番号 1 0 1	配列番号 1 0 3
L	配列番号 1 1 1	配列番号 1 1 3
M	配列番号 1 2 1	配列番号 1 2 3
N	配列番号 1 3 1	配列番号 1 3 3

10

。 [態様 1 9 2] 以下から選択される軽鎖ポリペプチド配列および重鎖ポリペプチド配列を含む、態様 1 8 8 に記載の抗 C G R P 抗体または抗体断片： 20

【表 3 a】

	軽鎖	重鎖
A b 1	配列番号 2	配列番号 4
A b 2	配列番号 1 2	配列番号 1 4
A b 3	配列番号 2 2	配列番号 2 4
A b 4	配列番号 3 2	配列番号 3 4
A b 5	配列番号 4 2	配列番号 4 4
A b 6	配列番号 5 2	配列番号 5 4
A b 7	配列番号 6 2	配列番号 6 4
A b 8	配列番号 7 2	配列番号 7 4
A b 9	配列番号 8 2	配列番号 8 4
A b 1 0	配列番号 9 2	配列番号 9 4
A b 1 1	配列番号 1 0 2	配列番号 1 0 4
A b 1 2	配列番号 1 1 2	配列番号 1 1 4
A b 1 3	配列番号 1 2 2	配列番号 1 2 4
A b 1 4	配列番号 1 3 2	配列番号 1 3 4

30

。 [態様 1 9 3] 可変軽鎖および可変重鎖ポリペプチド配列がそれぞれ、配列番号 1、1 1、2 1、3 1、4 1、5 1、6 1、7 1、8 1、9 1、1 0 1、1 1 1、1 2 1、または 1 3 1 の可変軽鎖ポリペプチド配列のうちの 1 つ、および配列番号 3、1 3、2 3、3 3、4 3、5 3、6 3、7 3、8 3、9 3、1 0 3、1 1 3、1 2 3 または 1 3 3 の可変重鎖ポリペプチド配列のうちの 1 つとそれぞれ少なくとも 9 0 % 同一である、態様 1 8 8 ~ 1 9 2 のいずれか 1 項に記載の抗 C G R P 抗体または抗体断片。 40

[態様 1 9 4] キメラまたはヒト化である、態様 1 8 8 ~ 1 9 3 のいずれか 1 項に記載の抗 C G R P 抗体または抗体断片。

[態様 1 9 5] 非グリコシル化であるか、またはマンノース残基のみを含む、態様 1 8 8 ~ 1 9 4 のいずれか 1 項に記載の抗 C G R P 抗体または抗体断片。 50

〔態様１９６〕 ヒト定常ドメインを含む、態様１８８～１９３のいずれか１項に記載の抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片。

〔態様１９７〕 ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３またはＩｇＧ４抗体である、態様１９６記載の抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片。

〔態様１９８〕 エフェクター機能、半減期、タンパク質分解、および／またはグリコシル化の少なくとも１つを変更するために修飾されたＦｃ領域を含む、態様１８８～１９６のいずれか１項に記載の抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片。

〔態様１９９〕 前記Ｆｃ領域がグリコシル化を変更または除去する突然変異を含む、態様１９８記載の抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片。

〔態様２００〕 検出可能な標識または治療薬に直接的または間接的に結合されている、態様１８８～１９９のいずれか１項に記載の抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片。

10

〔態様２０１〕 エフェクター部分をさらに含む、態様１８８～１９９のいずれか１項に記載の抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片。

〔態様２０２〕 前記エフェクター部分が検出可能な部分または機能部分である、態様２０１記載の抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片。

〔態様２０３〕 前記検出可能な部分が、蛍光色素、酵素、基質、生物発光物質、放射性物質、または化学発光物質である、態様２０２記載の抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片。

〔態様２０４〕 前記機能部分が、ストレプトアビジン、アビジン、ビオチン、細胞毒素、細胞毒性薬、または放射性物質である、態様２０２記載の抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片。

20

〔態様２０５〕 可変軽鎖および可変重鎖ポリペプチド配列がそれぞれ、配列番号１、１１、２１、３１、４１、５１、６１、７１、８１、９１、１０１、１１１、１２１または１３１の可変軽鎖ポリペプチド配列の可変軽鎖ポリペプチド配列の１つ、および配列番号３、１３、２３、３３、４３、５３、６３、７３、８３、９３、１０３、１１３、１２３または１３３の可変重鎖ポリペプチド配列の１つとそれぞれ少なくとも９５％同一である、態様１８８～２０４のいずれか１項に記載の抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片。

〔態様２０６〕 可変軽鎖および可変重鎖ポリペプチド配列がそれぞれ、配列番号１、１１、２１、３１、４１、５１、６１、７１、８１、９１、１０１、１１１、１２１または１３１の可変軽鎖ポリペプチド配列の可変軽鎖ポリペプチド配列の１つ、および配列番号３、１３、２３、３３、４３、５３、６３、７３、８３、９３、１０３、１１３、１２３または１３３の可変重鎖ポリペプチド配列の１つとそれぞれ少なくとも９８％同一である、態様１８８～２０５のいずれか１項に記載の抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片。

30

〔態様２０７〕 可変軽鎖および可変重鎖ポリペプチド配列が、それぞれ、配列番号１、１１、２１、３１、４１、５１、６１、７１、８１、９１、１０１、１１１、１２１または１３１の可変軽鎖ポリペプチド配列の１つ、および配列番号３、１３、２３、３３、４３、５３、６３、７３、８３、９３、１０３、１１３、１２３または１３３の可変重鎖ポリペプチド配列の１つとそれぞれ少なくとも９９％同一である、態様１８８～２０６のいずれか１項に記載の抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片。

〔態様２０８〕 態様１～１７または態様１８８～２０７のいずれか１項に記載の抗ＣＧＲＰ抗体または抗体断片を含む組成物。

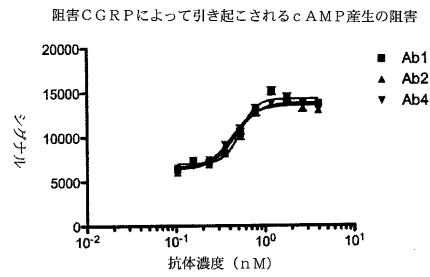
40

〔態様２０９〕 治療または診断用途に適している、態様２０８記載の組成物。

〔態様２１０〕 少なくとも１つの安定剤を更に含む、態様２０８記載の組成物。

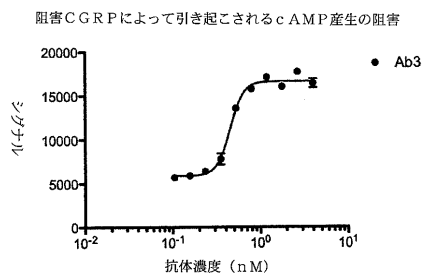
〔態様２１１〕 凍結乾燥される態様２０８記載の組成物。

【図 19】

ヒトCGRP α cAMP

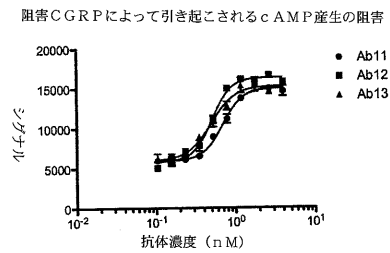
	IC50 (pM)
Ab1	531
Ab2	452
Ab4	429

【図 20】

ヒトCGRP α cAMP

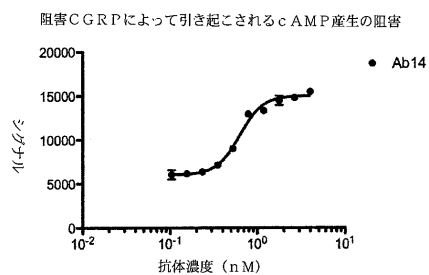
	IC50 (pM)
Ab3	452

【図 23】

ヒトCGRP α cAMP

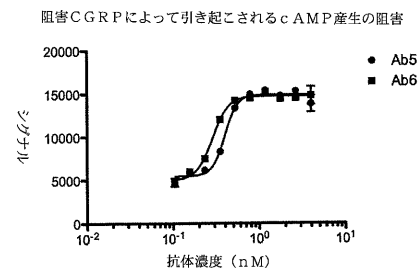
	IC50 (pM)
Ab11	698
Ab12	511
Ab13	498

【図 24】

ヒトCGRP α cAMP

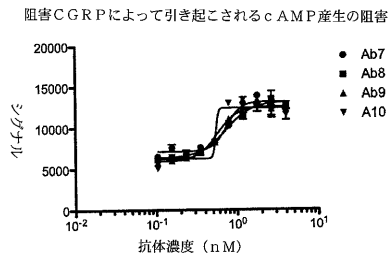
	IC50 (pM)
Ab14	631

【図 21】

ヒトCGRP α cAMP

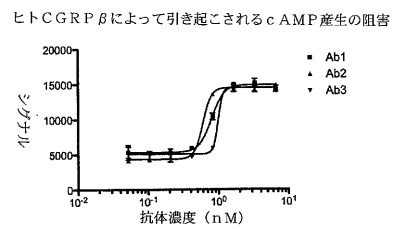
	IC50 (pM)
Ab5	400
Ab6	288

【図 22】

ヒトCGRP α cAMP

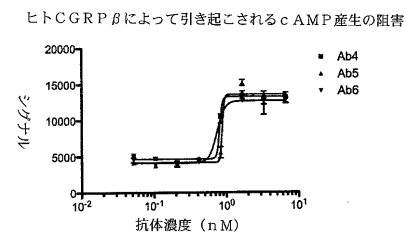
	IC50 (pM)
Ab7	743
Ab8	734
Ab9	568
A10	542

【図 25】

ヒトCGRP β cAMP

	IC50 (pM)
Ab1	801
Ab2	601
Ab3	989

【図 26】

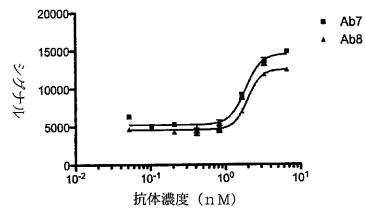
ヒトCGRP β cAMP

	IC50 (pM)
Ab4	805
Ab5	875
Ab6	740

【図 27】

ヒトCGRPβ cAMP

ヒトCGRPβによって引き起こされるcAMP産生の阻害

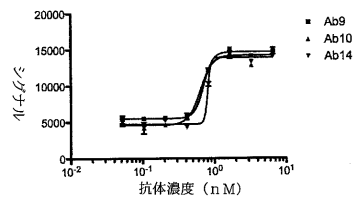


	IC50 (pM)
Ab7	1858
Ab8	1981

【図 28】

ヒトCGRPβ cAMP

ヒトCGRPβによって引き起こされるcAMP産生の阻害

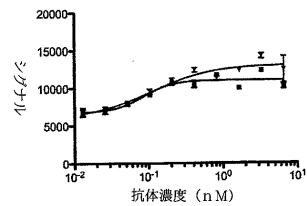


	IC50 (pM)
Ab9	716
Ab10	641
Ab14	812

【図 31】

ラットCGRP cAMP

ラットCGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害

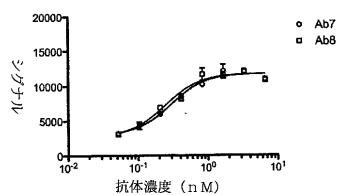


	IC50 (pM)
Ab3	85
Ab6	111

【図 32】

ラットCGRP cAMP

ラットCGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害

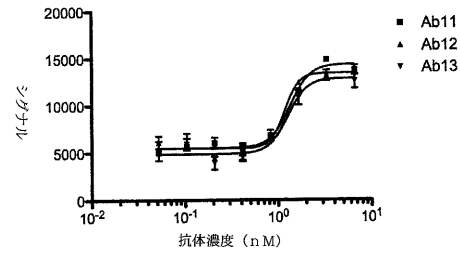


	IC50 (pM)
Ab7	297
Ab8	243

【図 29】

ヒトCGRPβ cAMP

ヒトCGRPβによって引き起こされるcAMP産生の阻害

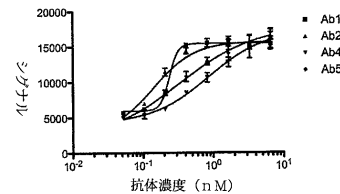


	IC50 (pM)
Ab11	1344
Ab12	1181
Ab13	1276

【図 30】

ラットCGRP cAMP

ラットCGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害

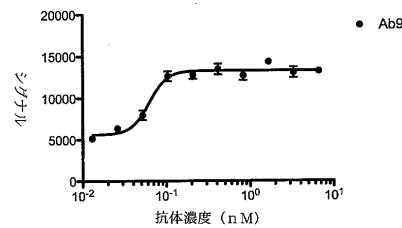


	IC50 (pM)
Ab1	239
Ab2	142
Ab4	868
Ab5	334

【図 33】

ラットCGRP cAMP

ラットCGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害

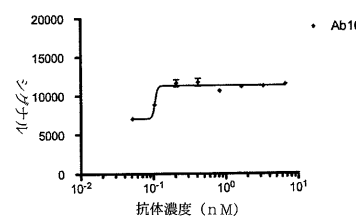


	IC50 (pM)
Ab9	62

【図 34】

ラットCGRP cAMP

ラットCGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害

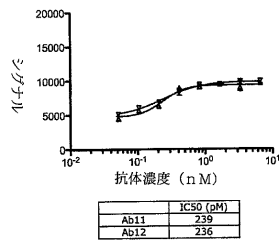


	IC50 (pM)
Ab10	105

【図 35】

ラットCGRP cAMP

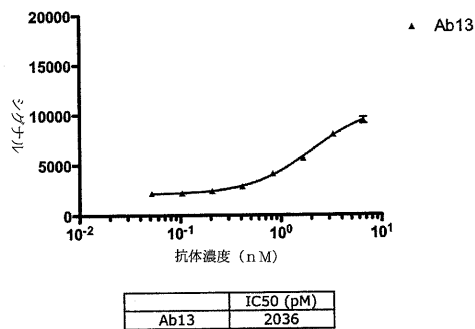
r t CGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害



【図 36】

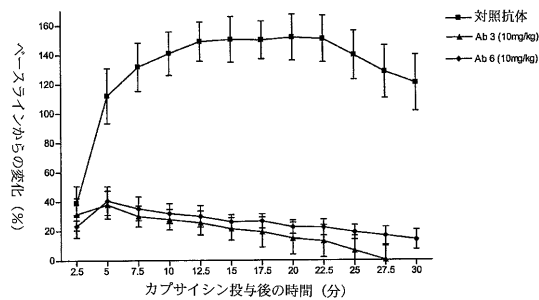
ラットCGRP cAMP

r t CGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害



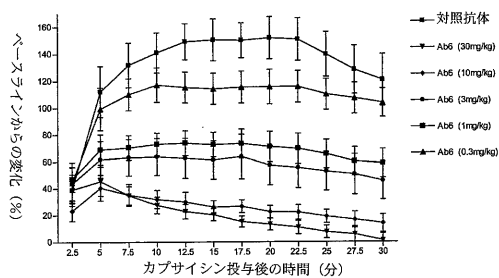
【図 39】

カプサイシン投与後の血管拡張の減少



【図 40】

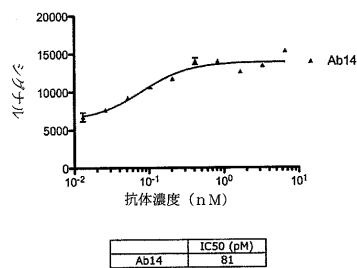
カプサイシン投与後の血管拡張の減少



【図 37】

ラットCGRP cAMP

r t CGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害

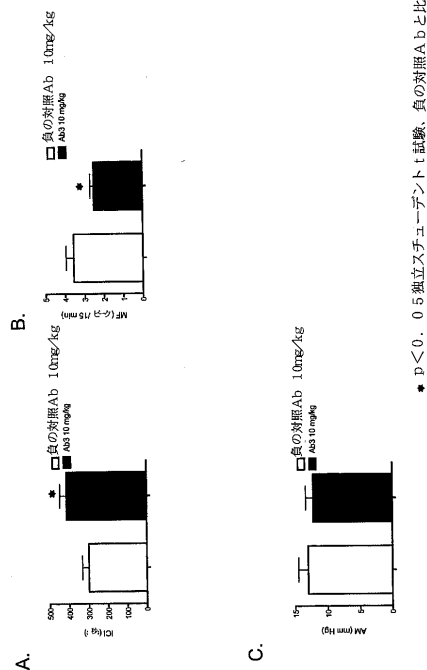


【図 38】

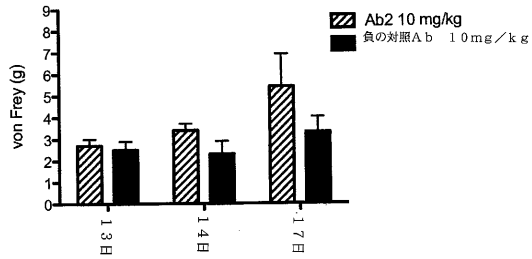
放射性リガンド結合の阻害

	IC ₅₀ (nM)	K _i (nM)
Ab1	0.585	0.46
Ab2	0.482	0.378
Ab3	2.49	10.96
Ab4	0.579	0.455
Ab5	0.586	0.461
Ab6	2.46	1.94
Ab7	4.53	3.56
Ab8	0.936	0.736
Ab9	2.03	1.6
Ab10	0.28	0.22
Ab11	2.26	1.78
Ab12	0.315	0.248
Ab13	0.335	0.264

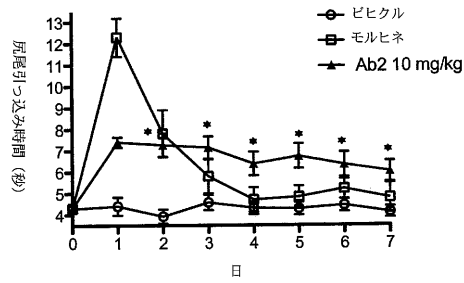
【図 41】



【図 4 2】

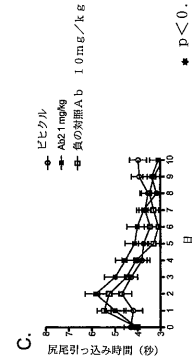
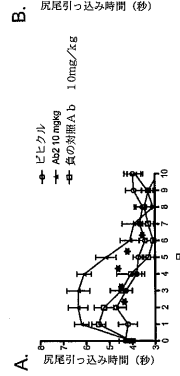
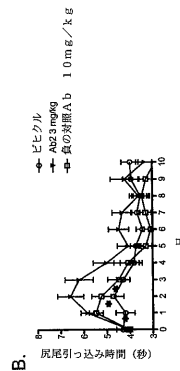


【図 4 3】



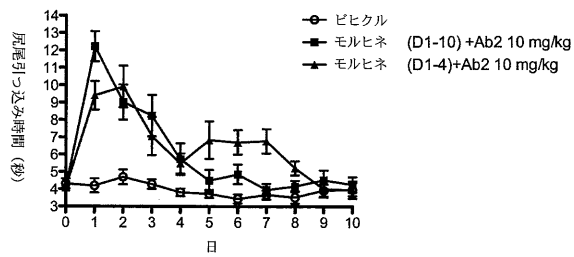
* $p < 0.05$, 一元配置ANOVAとそれに続くダネット試験、
ビヒクルと比較

【図 4 4】

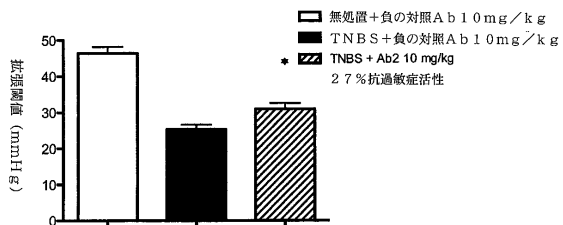


* $p < 0.05$, 一元配置ANOVAとそれに続くダネット試験、
ビヒクルと比較

【図 4 5】



【図 4 6】



* $p < 0.05$ スチューデント t 試験、TNBS+負の対照群と比較

【配列表】

0006282584000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	25/06	(2006.01)	A 6 1 P	25/06	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	25/04	(2006.01)	A 6 1 P	25/04	
A 6 1 P	19/10	(2006.01)	A 6 1 P	19/10	
A 6 1 P	1/16	(2006.01)	A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	15/00	(2006.01)	A 6 1 P	15/00	
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	13/10	(2006.01)	A 6 1 P	13/10	
A 6 1 P	13/08	(2006.01)	A 6 1 P	13/08	
A 6 1 P	1/18	(2006.01)	A 6 1 P	1/18	
A 6 1 P	13/02	(2006.01)	A 6 1 P	13/02	
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	31/04	(2006.01)	A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	25/36	(2006.01)	A 6 1 P	25/36	
A 6 1 P	37/08	(2006.01)	A 6 1 P	37/08	
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	17/06	
A 6 1 P	25/10	(2006.01)	A 6 1 P	25/10	
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	17/04	(2006.01)	A 6 1 P	17/04	
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	31/485	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 K	31/192	(2006.01)	A 6 1 K	31/485	
A 6 1 K	31/196	(2006.01)	A 6 1 K	31/192	
A 6 1 K	31/40	(2006.01)	A 6 1 K	31/196	
A 6 1 K	31/603	(2006.01)	A 6 1 K	31/40	
A 6 1 K	31/222	(2006.01)	A 6 1 K	31/603	
A 6 1 K	31/5415	(2006.01)	A 6 1 K	31/222	
A 6 1 K	31/015	(2006.01)	A 6 1 K	31/5415	
A 6 1 K	31/137	(2006.01)	A 6 1 K	31/015	
A 6 1 K	31/445	(2006.01)	A 6 1 K	31/137	
A 6 1 K	31/4468	(2006.01)	A 6 1 K	31/445	
A 6 1 K	31/4535	(2006.01)	A 6 1 K	31/4468	
A 6 1 K	31/451	(2006.01)	A 6 1 K	31/4535	
A 6 1 K	31/135	(2006.01)	A 6 1 K	31/451	
A 6 1 K	31/439	(2006.01)	A 6 1 K	31/135	
			A 6 1 K	31/439	

- (74)代理人 100117813
弁理士 深澤 憲広
- (74)代理人 100163784
弁理士 武田 健志
- (72)発明者 コヴァセヴィッチ, ブライアン・ロバート
アメリカ合衆国ワシントン州98296, スノーホーミシュ, トゥーハンドレッドアンドサード・ストリート・サウスイースト 13916
- (72)発明者 ガルシア - マルティネス, レオン・エフ
アメリカ合衆国ワシントン州98072, ウッディンビル, トゥーハンドレッドアンドフォーティーン・ストリート・サウスイースト 4926
- (72)発明者 オルソン, ケイティ
アメリカ合衆国ワシントン州98028, ケンモア, ノースイースト・ワンハンドレッドアンドエイティセカンド・ストリート 6700, ナンバー・ディー207
- (72)発明者 デュツァー, ベンジャミン・エイチ
アメリカ合衆国ワシントン州98102, シアトル, フランクリン・アベニュー・イースト 3124エイ
- (72)発明者 ビルグレン, ジェンズ・ジェイ
アメリカ合衆国ワシントン州98115, シアトル, サンド・ポイント・ウェイ・ノースイースト 7309, ナンバー・ビー948
- (72)発明者 ラザム, ジョン・エイ
アメリカ合衆国ワシントン州98119, シアトル, テンス・アベニュー・ノースウエスト 2409
- (72)発明者 ミッチェル, ダニエル・エム
アメリカ合衆国ワシントン州98115, シアトル, トゥエンティフォース・アベニュー・ノースイースト 6522ビー
- (72)発明者 マクニール, パトリシア・ダイアン
アメリカ合衆国ワシントン州98003, フェデラル・ウェイ, サウス・トゥーハンドレッドアンドナインティス・ブレイス 1333
- (72)発明者 ジャンソン, ニコール・エム
アメリカ合衆国ワシントン州98103, シアトル, ノース・フォーティセブンス・ストリート 1413
- (72)発明者 ルーミス, マリア・クリスティーナ
アメリカ合衆国ワシントン州98012, ボセル, ワンハンドレッドアンドナインティシックス・ストリート・サウスイースト 4807

審査官 植原 克典

- (56)参考文献 特開平06-087890(JP, A)
特開2011-046710(JP, A)
国際公開第2007/076336(WO, A1)
特表2011-513387(JP, A)
特表2011-513386(JP, A)
British Journal of Pharmacology, 2008年, vol.155, pp.1093-1103

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00 - 15/90

C07K 16/18

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

BIOSIS/MEDLINE/CAPLUS/REGISTRY(STN)