

(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 1

C 12 N	15/09	(2006.01)	C 12 N	15/00	A
C 07 K	16/18	(2006.01)	C 07 K	16/18	Z N A
C 12 N	1/15	(2006.01)	C 12 N	1/15	
C 12 N	1/19	(2006.01)	C 12 N	1/19	
C 12 N	1/21	(2006.01)	C 12 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)
(86) (22) 出願日	平成24年5月21日 (2012.5.21)
(65) 公表番号	特表2014-517699 (P2014-517699A)
(43) 公表日	平成26年7月24日 (2014.7.24)
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/038844
(87) 国際公開番号	W02012/162243
(87) 国際公開日	平成24年11月29日 (2012.11.29)
審査請求日	平成27年5月21日 (2015.5.21)
(31) 優先権主張番号	61/488,660
(32) 優先日	平成23年5月20日 (2011.5.20)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	511305553 アルダーバイオ・ホールディングズ・エル エルシー
	アメリカ合衆国ネバダ州89109, ラス ベガス, コンベンション・センター・ドラ イブ 101, スイート 850
(74) 代理人	100140109 弁理士 小野 新次郎
(74) 代理人	100075270 弁理士 小林 泰
(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<sub>L</sub>)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<sub>H</sub>)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<sub>H</sub>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<sub>L</sub>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<sub>L</sub>)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 ( $V_H$ ) 鎌、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、IgG1、IgG2、IgG3 または IgG4 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 Fc 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 IgG1 定常ドメインを含み、それは少なくとも 1 つの Fc 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。 10

**【請求項 6】**

ヒト IgG1 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。 20

**【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 ( $V_L$ ) 鎌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 ( $V_H$ ) 鎌を含む、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； 30

(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 Fc 領域を含む；

(v) ヒト化抗体、キメラ抗体、单鎖抗体、または一価抗体である；

(vi) Fab 断片、Fab' 断片、または  $F(ab') 断片から選択される抗体断片である；$

(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) CGRP と  $10^{-4} \text{ S}^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-5} \text{ S}^{-1}$ 、 $10^{-5} \text{ S}^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-6} \text{ S}^{-1}$ 、 $10^{-6} \text{ S}^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-7} \text{ S}^{-1}$ 、または  $10^{-7} \text{ S}^{-1}$  以下の解離速度 ( $K_{off}$ ) で結合する； 40

(ix) CGRP と CGRP-R および / またはそのマルチマー、CGRP-CGRP-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效果を拮抗する；

(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、ストレプトアビシン、アビシン、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 / 又は

(xi) ヒト IgG1、IgG2、IgG3、または IgG4 から誘導されるヒト Fc 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。 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、副鼻洞性頭痛、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、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、卵巢痛、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、リウマチ性関節炎痛、腰痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛、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、クローア病、回腸炎、潰瘍性大腸炎、腎症痛、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 C G R P に関連する疾患又は状態の治療、改善、軽減又は予防のために用いるものであり。 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、皮膚病搔痒症、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、抗生素質、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 NSAID、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 NSAID 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ン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ビ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、10

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、ブブレノルフィン、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、ペンタゾシンまたはそれらの薬剤的に許容される塩、およびモルヒネまたはモルヒネ誘導体またはその薬剤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、NGF 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】**

20

組成物が、対象に投与された際に当該対象の体重 kg あたり 0.1 から 100 mg / kg の間の濃度を提供する抗 CGRP 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 kg あたり 0.4 mg / kg である、請求項 20 に記載の医薬組成物。

**【請求項 22】**

30

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 種間に 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 CGRP 抗体断片が、Fab 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 kg あたり 0.1 mg / kg ~ 40 mg / kg の間の濃度で対象に投与される Fab 断片を含む、請求項 23 に記載の医薬組成物。

**【請求項 25】**

40

Fab 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頻度、1 週間に 1 回またはそれより低頻度、1 日に 1 回またはそれより低頻度、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、薬剤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

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（P B S）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。

10

【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、米国特許出願番号第 61 / 488,660 号（代理人整理番号第 67858.730300 号）、標題「抗 C G R P 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、E F S Web によって A S C I I 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 A S C I I 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。

20

【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、「C G R P」）に対する結合特異性を有する抗体およびその断片（F a b 断片を含む）に関する。本発明はさらに、C G R P 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 C G R P 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（C G R P）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。C G R P の 2 つの形態、すなわち C G R P アルファおよび C G R P ベータ形態がヒトにおいて存在し、同様の活性を有する。C G R P アルファおよび C G R P 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 C G R P 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)。

30

【0004】

C G R P 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)。C G R P の生物学的效果は、C G R P 受容体（C G R P R）によって媒介され、これは受容体関連膜タンパク質（R A M P）とあわせて 7 の膜貫通成分から構成される。C G R P 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 c A M P の产生に必須である、受容体成分タンパク質（R C P）の活性をさらに必要とする。Doods, H., Curr. Op. Invest. Drugs, 2(9):1261-68 (2001)。

40

【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。C G R P 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 C G R P の血漿濃度は、他の神経ペプチドを

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、Arulmo zhi 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<sub>1B</sub>、5-HT<sub>1D</sub>、および5-HT<sub>1F</sub>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。10

#### 【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。20

#### 【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でき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)。30

#### 【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、テレビ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。40

#### 【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<sub>H</sub>、V<sub>L</sub>およびCDRポリペ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產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、受容者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、副鼻洞性頭痛（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、心因性搔痒症、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

#### 【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、腎症痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、または肺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。

30

#### 【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<sub>H</sub>、V<sub>L</sub>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<sub>a</sub>b断片、F<sub>a</sub>b'断片、F(a b')<sub>2</sub>断片、Fv断片、scFv断片、SMIP(小分子免疫薬)、キャメルボディ、ナノボディ、およびIgNARが含まれる。

#### 【0018】

本発明の実施形態は、CGRP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CGRP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、CGRP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CGRP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CHO、NSOもしくはHEK293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CGRP抗体またはそれらの断片の产生に関する。  
10

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0019】

【図1-1】全長型抗体Ab1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Ab1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Ab1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Ab2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Ab2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Ab2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Ab3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Ab3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Ab3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Ab4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Ab4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Ab4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Ab5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Ab5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Ab5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Ab6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Ab6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Ab6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Ab7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。 10

【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。 20

【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。 30

【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。 40

【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。 50

【図39】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Ab3およびAb6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40】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Ab6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41】図41A-Cは、生理食塩水注入中の膀胱容量に対するAb3の有益な効果を示す。動物にAb3または負の対照抗体を投与し、次いで生理食塹水を膀胱に注入する間、モニターした。ICI(パネルA)は増加し、MF(パネルB)は減少し、膀胱容量が増大したことを示す。AM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( $p < 0.05$ 、独立スチュードントt試験、負の対照Abと比較)。凡例:黒い棒グラフ、Ab3処置(10mg/kg);白抜きの棒グラフ、負の対照抗体(10mg/kg)。エラーバーは標準偏差を示す。略語:ICI、収縮間隔;MF、尿意頻度;AM、尿意の大きさ。10

【図42】神経因性疼痛のモデルにおけるAb2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Ab2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(Ab2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43】Ab2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( )、Ab2(10mg/kg、 )、またはビヒクル(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日までに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、Ab2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。Ab2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ANOVAとそれに続くダネット試験、ビヒクルと比較、星印によって示す)。エラーバーは標準誤差を示す。20

【図44】Ab2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、1mg/kg( )、3mg/kg( )、もしくは10mg/kg( )の用量の抗体Ab2、またはビヒクル( )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、Ab2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ANOVAとそれに続くダネット試験、ビヒクルと比較)。エラーバーは標準誤差を示す。30

【図45】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Ab2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10mg/kgの用量の抗体Ab2( および )またはビヒクル( )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46】内臓痛のラットモデルにおけるAb2の効果を示す。内臓痛は、ナイーブ動物(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Ab2(斜線の棒グラフ)のいずれかを受けたTNS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、Ab2で処置された動物によって27%軽減され、拡張閾値はAb2の投与によって有意に改善された( $p < 0.05$ 、スチュードントt試験、TNS+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

## 【0020】

## 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、および試薬は異なつていてもよいので、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

## 【0021】

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 : ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF-NH<sub>2</sub> (配列番号 281)  
(N末端フェニルアラニンはアミド化されている)；20

CGRP ベータ : ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKSNFVPTNVGSKAF-NH<sub>2</sub> (配列番号 282) (N末端フェニルアラニンは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。

## 【0022】

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胞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產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

## 【0023】

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 (Issatchenkovia)、カザクスタンニア属 (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pora属 (Saturnispora)、テトラピシスpora属 (Tetrapisispora)、トルラスピラ属 (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、ヤロウイア属 (Yarrowia)、ロドスボリジウム属 (Rhodosporidium)、カンジダ属 (Candida)、ハンセンラ属 (Hansenula)、フィロバシウム属 (Filobasidium)、スボリジオボルス属 (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

## 【0024】

10

20

30

40

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*)、およびハンセヌラ・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 / 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】

30

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

## 【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 *ZEO*、*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产生は、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). *Method[s] 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)、ICL1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 (GAP) (Waterham et al. (1997) Gene 186(1):37-44)、ならびにFLD1プロモーター (Shen et al. (1998) Gene 216(1):93-102) が挙げられる。GAP プロモーターは強力な構成的プロモーターであり、AOX および FLD1 プロモーターは誘導性である。

#### 【0039】

他の酵母プロモーターとしては、ADH1、アルコールデヒドロゲナーゼII、GAL4、PHO3、PHO5、Pyk、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。

#### 【0040】

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、インペ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K28プレプロ毒素配列、PHA-E、FACE、ヒトMCP-1、ヒト血清アルブミンシグナル配列、ヒトIg重鎖、ヒトIg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。

#### 【0041】

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10~300bpのDNA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。

#### 【0042】

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mRNA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DNAまたはcDNA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、mRNA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。

#### 【0043】

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

10

20

30

40

50

P C R / 組換え法を利用する。単離されたプラスミドまたはD N A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。

#### 【 0 0 4 4 】

断片の制限およびライゲーションの代替法として、a t t 部位および組換え酵素に基づく組換え法を使用して、D N A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D N A組換えを利用する。組換えは、相互作用D N A分子上の特定の付着(a t t )部位間で起こる。a t t 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、a t t 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D N A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D N A間で起こり得る。

#### 【 0 0 4 5 】

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a t t B部位を含むP C R産物を生成させ、a t t 部位を含む適切なベクターにクローンされたc D N A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a t t 部位を導入することができる。

#### 【 0 0 4 6 】

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的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。

#### 【 0 0 4 7 】

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。

#### 【 0 0 4 8 】

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、マークーなどを使用して、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。

#### 【 0 0 4 9 】

例えば、真核P D I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。P D I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。B I P (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つ以上の非共有的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、IgG、IgM、IgA、IgE、IgD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產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ほ乳動物抗体、ヒト化抗体、単鎖抗体（たとえば scFv）、キャメルボディ、ナノボディ、IgNAR（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 Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>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-development isotype, Protein Sci. 2005 Nov;14(11):2901-9. Epub 2005 Sep 30, Greenberg AS, et al., A new antigen receptor gene family that undergoes rearrangement and extensive somatic diversification in sharks, Nature. 1995 Mar 9;374(6518):168-73, Nuttall SD, et al., Isolation of the new antigen receptor from wobbegong sharks, and use as a scaffold for the display of protein loop libraries, Mol Immunol. 2001 Aug;38(4):313-26, Hamers-Casterman C, et al., Naturally occurring antibodies devoid of light chains, Nature. 1993 Jun 3;363(6428):446-8, Gill DS, et al., Biopharmaceutical Drug discovery using novel protein scaffolds, Curr Opin Biotechnol. 2006 Dec; 17(6):653-8. Epub 2006 Oct 19を参考のこと。  
10  
20

#### 【 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产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、PCR 増幅を使用して cDNA を作成する。増幅された免疫グロブリン cDNA 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产生する。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ニング（抗体分子の Fab 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产生する。  
30  
40

#### 【 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（aa）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、あるいはグリコシリ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  
50

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。クローリ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。

### 【 0 0 5 3 】

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产生するために、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產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。

### 【 0 0 5 4 】

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、参考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。

### 【 0 0 5 5 】

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、 $Fab'$ 、 $F(ab')_2$ 、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产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。

### 【 0 0 5 6 】

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シン、アビシン、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。

### 【 0 0 5 7 】

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。

### 【 0 0 5 8 】

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 c D N A、または天然の遺伝子と異なるコドンを有する合成配列）。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 D N A の異種性領域を生じさせない。

#### 【 0 0 5 9 】

「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 R N A 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 D N A 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。R N A 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 m R N A 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。

#### 【 0 0 6 0 】

ベクターを使用して、D N A、R N A 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。「D N A 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マッジ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 D N A ベクターである。これは、通常、R N A ポリメラーゼに結合し、m R N A の転写を開始するプロモーター、ならびに m R N A のポリペプチド（複数可）への翻訳をおこなうリボ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产生が可能になる。

#### 【 0 0 6 1 】

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产生である。増幅された配列は、通常、D N A 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 P C R は核酸増幅のプロトタイプであり、本明細書における P C R 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。

#### 【 0 0 6 2 】

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<sub>a</sub>, F<sub>b</sub> 領域と呼ばれている。「Y」字型の幹部分は F<sub>c</sub> 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。

#### 【 0 0 6 3 】

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（γ、μ、ε、α、

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 Ig G、Ig M、Ig A、Ig D、および Ig E）。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「V R」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

#### 【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。30

#### 【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：Q V L T Q T A S P V S A A V G S T V T I N C Q A S Q S V Y D 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 L E C A D A A T Y Y C L G S Y D C S S 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 (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：Q V L T Q T A S P V S A A V G S T V T I N C Q A S Q S V Y D 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 L E C A D A A T Y Y C L G S Y D C S S 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 P50

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)  
。

**【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：Q S L E E S G G R L V T P G T P L T L T C  
T V S G L D L S S Y Y M Q W V R Q A P G K G L E W I G V I G I N D N T Y Y A S W  
A K G R F T I S R A 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)。

**【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：Q S L E E S G G R L V T P G T P L T L T C T V S G L  
D L S S Y Y M Q W V R Q A P G K G L E W I G V I G I N D N T Y Y A S W A K G R F  
T I S R A 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4)。

**【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：QVLTVSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGCSSGDCFKVFGGTKVIEIKR（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：QVLTVSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYDNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTSTLASGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSSGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPRREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDKSTYSLSSRTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE（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：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLDLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVIGINDNNTYYASWAKGRFTISRDN SKTTVY LQMNSLRAEDTA VYFCARGDIWGQGTLVTVSS（配列番号13）。

**【0082】**

10

20

30

40

50

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：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSG  
 LDLSYYMHWVRQAPGKGLEWVGVI10  
 FTISRDN SKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGTL  
 VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPE  
 PVTVSWNSGALTSGVHTFP20  
 AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS  
 LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP  
 ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE  
 VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD  
 WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI30  
 SKAKGQPREPQVYTLPSREEMTKNQVS30  
 LTCLVKGFYPSDIAVEWESENQOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(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：QVL 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 D 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 S G D C F V F G G G T K V E I K R (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：QVL 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 D 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 S 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：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 L D L S S Y Y M Q W V R Q A P G K G L E W V G V I G I N D N 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

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：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 L D L S S Y Y M Q W V R Q A P G K G L E W V G V I G I N D N 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

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 24)。

【0095】

本発明は、配列番号 21 の可変軽鎖配列もしくは配列番号 22 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 25、配列番号 26、および配列番号 27 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 23 の可変重鎖配列もしくは配列番号 24 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 28、配列番号 29、および配列番号 30 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。

【0096】

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 21 または配列番号 22 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 23 または配列番号 24 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。

【0097】

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 21 の可変軽鎖配列または配列番号 22 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 25、配列番号 26、および配列番号 27 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。

【0098】

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 23 の可変重鎖配列または配列番号 24 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 28、配列番号 29、および配列番号 30 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。

【0099】

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 21 の可変軽鎖領域；配列番号 23 の可変重鎖領域；配列番号 21 の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号 25、配列番号 26、および配列番号 27）；および配列番号 23 の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号 28、配列番号 29、および配列番号 30）。

【0100】

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 22 および配列番号 24 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 Ab3 である。

【0101】

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 Ab3 に関して、Fab 断片は配列番号 21 の可変軽鎖配列および配列番号 23 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 21 および / または配列番号 23 への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企

10

20

30

40

50

図する。

**【0102】**

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<sub>a</sub>b断片は、A<sub>b</sub>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<sub>b</sub>3などの抗CGRP抗体またはそのF<sub>a</sub>b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。

**【0103】**

抗体A<sub>b</sub>4

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: QVLTQTPSPVSAAV GSTVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGQPPKQLIYDAST LASGVPSRFSGSGSTQFTLTIISGVQCNDAAAYYCLGSYD CTNGDCFVFVGGTEVVVKR(配列番号31)。

**【0104】**

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: QVLTQTPSPVSAAVGSTVTINCQASQ SVYHNTYLAWYQQKPGQPPKQLIYDASTLASGVPSRFSGS GSGTQFTLTIISGVQCNDAAAYYCLGSYDCTNGDCFVFVGG TEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(配列番号32)。

**【0105】**

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: QSLEESGGRLVTPEGTPLTLTC SVSGIDLSGYYMNWVRQAPGKGLEWIGVIGINGATYYASW AKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPGT LVT VSSASTKGPSVFP LAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSVSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVK FNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPSS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHN HYTQKSLSLSPGK(配列番号33)。

**【0106】**

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: QSLEESGGRLVTPEGTPLTLTC SVSGIDLSGYYMNWVRQAPGKGLEWIGVIGINGATYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGDIWGPGT LVT VSSASTKGPSVFP LAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSVSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVK FNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPSS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHN HYTQKSLSLSPGK(配列番号34)。

**【0107】**

本発明は、配列番号31の可変軽鎖配列もしくは配列番号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の1つ以上、ならびに/または配列番号33の可変重鎖配列もしくは配列番号34の重鎖配列の相補性決定領域(CDR、すなわち超可変領

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。

#### 【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。

#### 【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

#### 【0111】

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

## 【0115】

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：QVL 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41）。

## 【0116】

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：QVL 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42）。

10

## 【0117】

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：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 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43）。

20

## 【0118】

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：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 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44）。

30

## 【0119】

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

## 【0120】

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43または配列番号44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。

**【0121】**

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41の可変軽鎖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）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。

**【0122】**

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43の可変重鎖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）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

**【0123】**

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41の可変軽鎖領域；配列番号43の可変重鎖領域；配列番号41の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号45、配列番号46、および配列番号47）；および配列番号43の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号48、配列番号49、および配列番号50）。 20

**【0124】**

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42および配列番号44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Ab5である。

**【0125】**

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Ab5に関して、Fab断片は配列番号41の可変軽鎖配列および配列番号43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での、前記Fab中の配列番号41および／または配列番号43への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。 30

**【0126】**

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、Ab5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、Ab5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

**【0127】**

抗体Ab6

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：QVLTVQSPSSLSASVGDRTVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVIEIKR（配列番号51）。

**【0128】**

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

50

20

30

40

50

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 52 )。

## 【0129】

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：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 53 )。

10

## 【0130】

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：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 54 )。

20

## 【0131】

本発明は、配列番号 51 の可変軽鎖配列もしくは配列番号 52 の軽鎖配列の相補性決定領域（CDR、すなわち超可変領域）に対応する配列番号 55 、配列番号 56 、および配列番号 57 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 53 の可変重鎖配列もしくは配列番号 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、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、あるいはこれらの組合せからなる。

30

## 【0132】

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 51 または配列番号 52 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 53 または配列番号 54 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

## 【0133】

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 51 の可変軽鎖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）に対応する配列番号 55 、配列番号 56 、および配列番号 57 のポリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含む、あるいはこれらのポリペプチド配列のうちの 1 つ以上からなる。

## 【0134】

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)。

10

#### 【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。

20

#### 【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。

30

#### 【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：QVLQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGTTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDVDTSYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE(配列番号61)。

40

#### 【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：QVLQTASPVSAAVGSTVTINCQASQSVYNYNYLAWYQQKPGQPPKQLIYSTSTLASGVSSRFKGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSTGDCFVFGGTTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDVDTSYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE(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

50

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 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 10 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 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 3)。

#### 【0142】

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 10 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 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)。

#### 【0143】

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。

#### 【0144】

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。

#### 【0145】

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。

#### 【0146】

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。

#### 【0147】

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、

20

30

40

50

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 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 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

#### 【 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

10

20

30

40

50

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 74)。

## 【0155】

10

本発明は、配列番号 71 の可変軽鎖配列または配列番号 72 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 75、配列番号 76、および配列番号 77 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 73 の可変重鎖配列または配列番号 74 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 78、配列番号 79、および配列番号 80 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。

## 【0156】

20

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 71 または配列番号 72 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 73 または配列番号 74 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。

## 【0157】

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 71 の可変軽鎖配列または配列番号 72 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 75、配列番号 76、および配列番号 77 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

## 【0158】

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 73 の可変重鎖配列または配列番号 74 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 78、配列番号 79、および配列番号 80 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。

## 【0159】

40

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 71 の可変軽鎖領域；配列番号 73 の可変重鎖領域；配列番号 71 の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号 75、配列番号 76、および配列番号 77）；および配列番号 73 の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号 78、配列番号 79、および配列番号 80）。

## 【0160】

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 72 および配列番号 74 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 Ab 8 である。

## 【0161】

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 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 8 に関して、F a b 断片は配列番号 7 1 の可変軽鎖配列および配列番号 7 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 7 1 および / または配列番号 7 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 6 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 8 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 8 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 1 6 3 】

##### 抗体 A b 9

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 N V Y N 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 R 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 R 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 8 1）。20

#### 【 0 1 6 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 N V Y N 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 R 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 R 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 8 2）。30

#### 【 0 1 6 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 T V S G I G L S S Y Y M Q W V R Q S P G R G L E W I G V I G S D G K T Y Y A T W A K G R F T I S K T S S T T V D L R M A S L T T E D T A T Y F C T 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 8 3）。

#### 【 0 1 6 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 T V S G I G L S S Y Y M Q W V R Q S P G R G L E W I G V I G S D G K T Y Y A T W A K G R F T I S K T S S T T V D L R M A S L T T E D T A T Y F C T 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 8 4）。40

**【 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CGRP抗体またはそのF ab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。

#### 【0175】

##### 抗体A b 10

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：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91)。

#### 【0176】

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：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92)。

#### 【0177】

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：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93)。

#### 【0178】

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：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94)。

#### 【0179】

本発明は、配列番号91の可変軽鎖配列もしくは配列番号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、ならびに/または配列番号93の可変重鎖配列もしくは配列番号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、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

10

20

30

40

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 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 9 1 または配列番号 9 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 9 3 または配列番号 9 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。

**【0181】**

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 9 1 の可変軽鎖配列または配列番号 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。

**【0182】**

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 9 3 の可変重鎖配列または配列番号 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】**

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 9 1 の可変軽鎖領域；配列番号 9 3 の可変重鎖領域；配列番号 9 1 の可変軽鎖領域の相補性決定領域 ( 配列番号 9 5 、配列番号 9 6 、および配列番号 9 7 ) ；および配列番号 9 3 の可変重鎖領域の相補性決定領域 ( 配列番号 9 8 、配列番号 9 9 、および配列番号 1 0 0 ) 。

**【0184】**

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 9 2 および配列番号 9 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 1 0 である。

**【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 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 1 0 に関して、F a b 断片は配列番号 9 1 の可変軽鎖配列および配列番号 9 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での、前記 F a b 中の配列番号 9 1 および / または配列番号 9 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。

**【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、F a b 断片は、A b 1 0 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 0 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。

**【0187】**

**抗体 A b 1 1**

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 A S P V S P A V

10

20

30

40

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101)。

## 【0188】

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：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102)。 10

## 【0189】

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 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103)。

## 【0190】

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：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104)。 30

## 【0191】

本発明は、配列番号101の可変軽鎖配列もしくは配列番号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、ならびに／または配列番号103の可変重鎖配列もしくは配列番号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、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

## 【0192】

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101または配列番号102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103または配列番号104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。

## 【0193】

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 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】

30

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、二倍体ビ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。適切なビ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。

#### 【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：QVLTQSPSSL SASV GDRVTINCRA S QSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTST LASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGCSNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP (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：QVLTQSPSSL SASV GDRVTINCRA S QSVYYNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTST LASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP

50

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 11  
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：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 V T N Y Y M Q W V R Q A P G K G L E W V G V I G V N G K R 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 113)。

#### 【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：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 V T N Y Y M Q W V R Q A P G K G L E W V G V I G V N G K R 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 114)。

#### 【0203】

本発明は、配列番号 111 の可変軽鎖配列もしくは配列番号 112 の軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 115、配列番号 116、および配列番号 117 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 113 の可変重鎖配列もしくは配列番号 114 の重鎖配列の相補性決定領域 (CDR、すなわち超可変領域) に対応する配列番号 118、配列番号 119、および配列番号 120 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 111 または配列番号 112 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 113 または配列番号 114 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 111 の可変軽鎖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) に対応する配列番号 115、配列番号 116、および配列番号 117 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 113 の可変重鎖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) に対応する配列番号 118、配列番号 119、および配列番号 120 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：AIVMTQTPSSKSVPVGDVTINCQASESLYNNNALAWFQQKPGQPPKRLIYDASKLASGVPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCGGYRSDSLVDGVAFAGGTTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE（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：AIVMTQTPSSKSVPVGDVTINCQASESLYNNNALAWFQQKPGQPPKRLIYDASKLASGVPSRFSGGGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCGGYRSDSLVDGVAFAGGTTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE（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：QSVEESGGGLVQPEGSLTLC TASGFDFSSNAMWWVRQAPGKGLEWIGIIYNGDGSTYYAS WVNGRFSISKTSSTTVTLQLNSLTVADTATYYCARDLIDLW GPGTLVTVSS（配列番号123）。

10

20

30

40

50

## 【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：Q S V 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 10 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)。

## 【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。20

## 【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：QVLTVSPSSL SASV GDRVTINCQASQN VYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTST LASGVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYD CSRGDCFVFGGGTKVEIKR（配列番号131）。

## 【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：QVLTVSPSSL SASV GDRVTINCQASQ NVYNNNYLAWYQQKPGKVPKQLIYSTST LASGVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCSRGDCFVFGGG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C（配列番号132）。

## 【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：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSG IGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVI GSDGKTYYATWAKGRFTISRDNSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFC TRGDIWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKD YFPE PVTWSWN SGA L TSGVHTFP A VLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCP PPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE40

## 【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：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSG IGLSSYYMQWVRQAPGKGLEWVGVI GSDGKTYYATWAKGRFTISRDNSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFC TRGDIWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKD YFPE PVTWSWN SGA L TSGVHTFP A VLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVDARVEPKSCDKTHTCP PPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE50

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 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 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、CGRP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、CGRP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、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 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 CGRP 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 Ab14 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 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 Ab14 に関して、Fab 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、CGRPへの結合特異性を保持したまでの、前記 Fab  
50

中の配列番号131および／または配列番号133への付加、欠失およびそれらの変異体をさらに企図する。

【0234】

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<sub>a</sub>b断片は、A<sub>b</sub>14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<sub>b</sub>14などの抗CGRP抗体またはそのF<sub>a</sub>b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。

10

【0235】

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<sub>a</sub>b抗体形態、F<sub>a</sub>b'抗体形態、F(a<sub>b</sub>')<sub>2</sub>抗体形態、F<sub>v</sub>形態および単鎖F<sub>v</sub>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CGRP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283)。

【0236】

別の好ましい実施形態では、本明細書に記載される抗CGRP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：

20

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284)。

30

【0237】

別の実施形態では、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V<sub>H</sub>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、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<sub>L</sub>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CGRP抗体であって、前記のV<sub>H</sub>ポリペプチドまたはV<sub>L</sub>ポリペプチド中のフレームワーク残基(FR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、CGRPに特異的に結合する抗CGRP抗体がその結果生じる、単離抗CGRP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、IgG1定常領域、IgG2定常領域、IgG3定常領域、IgG4定常領域、IgG5定常領域、IgG6定常領域、IgG7定常領域、IgG8定常領域、IgG9定常領域、IgG10定常領域、IgG11定常領域、IgG12定常領域、IgG13定常領域、IgG14定常領域、IgG15定常領域、IgG16定常領域、IgG17定常領域、IgG18定常領域またはIgG19定常領域に由来するFcを含み得る。

40

【0238】

本発明の1つの実施形態では、前記の抗体またはV<sub>H</sub>ポリペプチドまたはV<sub>L</sub>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。

【0239】

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、それらの生物学的效果を中和する。

#### 【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、例えばストレプトアビジン、アビジン、ビオチン、細胞毒素、細胞傷害剤および放射性物質などの機能部分を付加することができる。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、ポリエチレンギリコール、エチレンギリコール／プロピレンギリコール共重合体、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、またはそれより多い結合化学部分を含むことができる。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。ポリエチレンギ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、ポリエチレンギ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ギ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、ポリエチレンギリコールは約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ギリコールは、例えば、米国特許第5,643,575号、Morpugo 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考により本明細書に組み込まれる。3040

#### 【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、参考により本明細書に組み込まれる（G-CSFへのPEGの結合）、欧州特許第0 401 384号を参照のこと。（トレシルクロリドを使用するGM-CSF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、ポリエチレンギリコールは、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。10

#### 【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0 413 622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0 322 094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。20

#### 【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オシアネート、ウンベリフェロン、ジクロロトリニアジニルアミン、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(<sup>125</sup>I)、炭素14(<sup>14</sup>C)、イオウ35(<sup>35</sup>S)、トリチウム(<sup>3</sup>H)およびリン32(<sup>32</sup>P)が含まれるが、これらに限定されない。30

#### 【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、アミノブテリン、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(cyclothosphamide)、メクロレタミン、ブスルファン、ジプロモマンニトール、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) シスプラチニンおよびカルボプラチニン(パラプラチニン)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、カルミニノマイシン、イダルビシン、エピルビシン、ミトキサントロンおよびビ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、4050

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；ならびにビンカアルカロイド、ビンクリスチンおよびビンプ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бин、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(*c o l c h i c i n*)、ジヒドロキシアントラシンジオン(*d i h y d r o x y a n t h r a c i n d i o n e*)、1'デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、ブロカイン、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、アスピラギナーゼ、コルチコステロイド、ミトタン(*m y t o t a n e*)(*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бин、カリケアマイシン、ドキソルビシン、5'フルオロウラシル、マイトイマイシンC、アクチノマイシンD、シクロホスファミド、ビ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(<sup>32</sup>P)、スカンジウム47(<sup>47</sup>Sc)、銅67(<sup>67</sup>Cu)、ガリウム67(<sup>67</sup>Ga)、イットリウム88(<sup>88</sup>Y)、イットリウム90(<sup>90</sup>Y)、ヨウ素125(<sup>125</sup>I)、ヨウ素131(<sup>131</sup>I)、サマリウム153(<sup>153</sup>Sm)、ルテチウム177(<sup>177</sup>Lu)、レニウム186(<sup>186</sup>Re)またはレニウム188(<sup>188</sup>Re)などの放射体、およびアスタチン211(<sup>211</sup>At)、鉛212(<sup>212</sup>Pb)、ビスマス212(<sup>212</sup>Bi)もしくは213(<sup>213</sup>Bi)またはアクチニウム225(<sup>225</sup>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。  
40

## 【0251】

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、キャメリボディ、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とは、当技術分野において周知である。

## 【0252】

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。

10

#### 【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。

20

#### 【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。

30

#### 【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。

40

#### 【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】

50

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<sub>H</sub>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<sub>L</sub>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に含まれるものとの同一である、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、单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、前記の疾患有、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、副鼻洞性頭痛(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、腎症痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、膀胱炎、腎症痛、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、胆囊炎、子宮内膜症、慢性膀胱炎や急性膀胱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

【0269】

本発明の別の実施形態では、前記の疾患有、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、膀胱癌、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、好ましくは膀胱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

30

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。10

#### 【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疗方法も企図する。本発明は、その治疗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。20

#### 【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、カルボプラチニンもしくはシスプラチニンなどのプラチナ化合物、ドキソルビ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。30

#### 【0274】

本発明は、CGRPを発現する細胞の存在を検出するインビオ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オアの投与をさらに包含する。さらなる実施形態では、前記のインビオ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包む治療計画が含まれる。

#### 【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 $5 \times 10^{-7}$  M、 $10^{-7}$  M、 $5 \times 10^{-8}$  M、 $10^{-8}$  M、 $5 \times 10^{-9}$  M、 $10^{-9}$  M、 $5 \times 10^{-10}$  M、 $10^{-10}$  M、 $5 \times 10^{-11}$  M、 $10^{-11}$  M、 $5 \times 10^{-12}$  M、 $10^{-12}$  M、 $5 \times 10^{-13}$  M、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、 $5 \times 10^{-12}$  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。4050

## 【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<sup>-1</sup>、 $5 \times 10^{-5}$  S<sup>-1</sup>、 $10^{-5}$  S<sup>-1</sup>、 $5 \times 10^{-6}$  S<sup>-1</sup>、 $10^{-6}$  S<sup>-1</sup>、 $5 \times 10^{-7}$  S<sup>-1</sup>、または $10^{-7}$  S<sup>-1</sup>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：

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTG  
 TGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAG  
 TGTTTATGATAACAACTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA  
 CCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
 CTCTGGCATCTGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGG  
 ATCTGGGACACAGTTCACTCTACCATTACAGCGACCTGGAG  
 TGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATG  
 ATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTGTGTTCTGGCGGAGGGAC  
 CGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
 (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：

30

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTG  
 TGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAG  
 TGTTTATGATAACAACTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA  
 CCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
 CTCTGGCATCTGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGG  
 ATCTGGGACACAGTTCACTCTACCATTACAGCGACCTGGAG  
 TGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATG  
 ATTGTAGTAGTGGTGATTGTTTGTGTTCTGGCGGAGGGAC  
 CGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
 TTCACTCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
 CTGCCCTCTGTTGTGCTGCCGTGAATAACTTCTATCCCAG  
 AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGGTGGATAACGCCCTCCAA  
 TCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  
 AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
 CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
 GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTGCCGTACAAAGAGCT  
 TCAACAGGGAGAGTAGTTAG (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：

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCC  
 GGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGACTCGA  
 CCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGCCAGGGCTCCA  
 GGGAAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTAATG  
 ATAACACATACTACGCGAGCTGGCGAAAGGCCGATT  
 CATCTCCAGAGCCTCGTCGACCCACGGTGGATCTGAAAATG  
 ACCAGTCTGACAACCAGGGACACGGCACCTATTTCTGTG  
 CCAGAGGGGACATCTGGGGCCAGGCACCCCTCGTACCGT 10  
 CTCGAGC (配列番号143)。

【0281】

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：

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCC  
 GGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGACTCGA  
 CCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGCCAGGGCTCCA  
 GGGAAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATTAATG  
 ATAACACATACTACGCGAGCTGGCGAAAGGCCGATT  
 CATCTCCAGAGCCTCGTCGACCCACGGTGGATCTGAAAATG  
 ACCAGTCTGACAACCAGGGACACGGCACCTATTTCTGTG  
 CCAGAGGGGACATCTGGGGCCAGGCACCCCTCGTACCGT  
 CTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTG  
 GCACCCCTCCCTCCACCTCTGGGGGCAAGCGGGCCC  
 TGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC  
 GGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAAGCGGGGTGAC  
 ACCTTCCCCTGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC  
 TCAGCAGCGTGGTGACCGTGGCCCTCCAGCAGCTTGGGCA  
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGGCCAGCAAC 30  
 ACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGGCCAAATCTTGTGACA  
 AAACTCACACATGCCAACCGTGCCCAAGCACCTGAAC  
 GACACCCCTCATGATCTCCCGAACCCCTGAGGTACATGCG  
 TGGTGGTGGACGTGAGGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTT  
 CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG  
 ACAAAAGCCGGGGAGGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTG  
 TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCCTGCACCAAGGACTGGCTGAA  
 TGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC  
 CCAGCCCCCATCGAGAAAACATCTCCAAAGCCAAGGGC 40  
 AGCCCCGAGAACCAACAGGTGTACACCCCTGCCCACTCCCG  
 GGAGGGAGATGACCAAGAACCAAGGTCAGCCCTGACCTGCCTG  
 GTCAAAGGCTTCTATCCCAAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG  
 AGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAAACTACAAAGACCAAGGCC  
 TCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTCTTCCTCTACAGC  
 AAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAACG  
 TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCA  
 CTACACGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCTCCGGTAAATGA  
 (配列番号144)。

【0282】

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。10

#### 【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)。20

#### 【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。30

#### 【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。40

#### 【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：50

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
 TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAG  
 TGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA  
 CCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
 CTCTGGCATTCTGGGTCCCCATCTCGTTCACTAGTGGCAGTGG  
 ATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAG  
 CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCAGGCAGTTATG  
 ATTGTTAGTAGTGGTGATTGTTTCTGGCAGGAAAC  
 CAAGGTGAAATCAAACGT (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：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
 TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAG  
 TGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA  
 CCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
 CTCTGGCATTCTGGGTCCCCATCTCGTTCACTAGTGGCAGTGG  
 ATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAG  
 CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCAGGCAGTTATG  
 ATTGTTAGTAGTGGTGATTGTTTCTGGCAGGAAAC  
 CAAGGTGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
 TTCACTCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
 CTGCCTCTGTTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG  
 AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATAACGCCCTCCAA  
 TCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  
 AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
 CAAAGCAGACTACGAGAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
 GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCT  
 TCAACAGGGAGAGTGT (配列番号152)。

【0289】

30

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：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCCCTGGTCCAGC  
 CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGACT  
 CGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCT  
 CCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGTCCGGAGTCATTGGTATCA  
 ATGATAACACATACAGCGAGCTGGGCCAACGCCGATT  
 CACCATCTCCAGAGACATTCCAAGAACACGGTGTATCTT  
 CAAATGAACAGCCTGAGAGGCTGAGGACACTGCTGTGTATT  
 TCTGTGCTAGAGGGACATCTGGGCCAACGGACCCCTCGT  
 CACCGTCTCGAGC (配列番号153)。

【0290】

40

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：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGCCCTGGTCCAGC  
 CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGACT  
 CGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCT

50

CCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTGGAGTCATTGGTATCA  
 ATGATAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATT  
 CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACACGGTGTATCTT  
 CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGGACACTGCTGTGTATT  
 TCTGTGCTAGAGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCCTCGT  
 CACCGTCTCGAGCGCCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC  
 CCCCTGGCACCCCTCCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAG  
 CGGCCCTGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC  
 GGTGACGGTGTGGAACTCAGGGCCCTGACCAAGCGGGC  
 GTGCACACCTTCCCAGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCT 10  
 ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTT  
 GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCC  
 AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGGCCAAATCTT  
 GTGACAAAACTCACACATGCCAACCGTGGCCAGCACCTGA  
 ACTCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAA  
 CCCAAGGACACCCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCA  
 CATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGAACCCCTGAGGT  
 CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT  
 GCCAAGACAAAGCCGGGGAGGGAGCAGTACGCCAGCACGT  
 ACCGTGTGGTCAGCGTCCCTCACCGTCTGCACCCAGGACTG 20  
 GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCACAGGTCTCCAACAAA  
 GCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAACCATCTCCAAAGCCA  
 AAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCC  
 ATCCCCGGGAGGGAGATGACCAAGAACCAAGGTCAAGCCTGACC  
 TGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGG  
 AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAAGAC  
 CACGCCTCCCGTGCCTGGACTCCGACGGCTCCCTTCTCC 30  
 TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGAGCAGGTGGCAGCAGG  
 GGAACGTCTTCATGCTCCGTGATGCATGAGGGCTCTGCA  
 CAACCACTACACGCAGAAGAGGCCCTCTCCCTGTCCTCGGGT  
 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 40

くを包含する、あるいはそれからなる：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F<sub>a</sub>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<sub>b</sub>2に関して、全長のA<sub>b</sub>2抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号12の軽鎖配列をコードする配列番号152のポリヌクレオチドおよび配列番号14の重鎖配列をコードする配列番号154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、F<sub>a</sub>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<sub>b</sub>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<sub>b</sub>2などの抗CGRP抗体またはそのF<sub>a</sub>b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A<sub>b</sub>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。

## 【0296】

抗体A<sub>b</sub>3

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21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：

CAAGTGCTGACCCAGTCCTCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAG  
TGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA  
CCAGGGAAAGTTCTAACGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
CTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTAGTGGCAGTGG  
ATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAG  
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCAGGCCAGTTATG  
ATTGTAGTAGTGGTAGTTGTTTCTGGCAGGAAAC  
CAAGGTGGAAATCAAACGT（配列番号161）。

## 【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22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：

CAAGTGCTGACCCAGTCCTCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAG  
TGTTTATGATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA

10

20

30

40

50

CCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
 CTCTGGCATCTGGGTCCTCAGTGGCAGTGG  
 ATCTGGGACAGATTCACCTCTCACCATCAGCAGCCTGCAG  
 CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTAGGCAGTTATG  
 ATTGTAGTAGTGGTGATTGTTGTTCTGGCAGGAAAC  
 CAAGGTGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
 TTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
 CTGCCCTGTGTTGTCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG  
 AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATAACGCCCTCCAA  
 TCGGGTAACCTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA 10  
 AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
 CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
 GTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCT  
 TCAACAGGGAGAGTGTAG (配列番号162)。

## 【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  
 CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAAGTCTCTGGACT 20  
 CGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCT  
 CCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTGGAGTCATTGGTATCA  
 ATGATAACACATACTACGCGAGCTGGCGAAAGGCCGATT  
 CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACACGGTGTATCTT  
 CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATT  
 TCTGTGCTAGAGGGACATCTGGGCCAAGGGACCCCTCGT  
 CACCGTCTCGAGC (配列番号163)。

## 【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  
 CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAAGTCTCTGGACT  
 CGACCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCT  
 CCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTGGAGTCATTGGTATCA  
 ATGATAACACATACTACGCGAGCTGGCGAAAGGCCGATT  
 CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACACGGTGTATCTT  
 CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATT  
 TCTGTGCTAGAGGGACATCTGGGCCAAGGGACCCCTCGT  
 CACCGTCTCGAGCGCCCTCCACCAAGGGCCATCGGTCTTC 40  
 CCCCTGGCACCCCTCCCTCCAAAGAGGCACCTCTGGGGGCACAG  
 CGGCCCTGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC  
 GGTGACGGTGTGGAACTCAGGGCGCCCTGACCCAGCGGGC  
 GTGCACACCTTCCCAGCTGTCCCTACAGTCCTCAGGACTCT  
 ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTT  
 GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGGCC  
 AGCAACACCAAGGTGGACGGAGAGTTGAGGCCAAATCTT  
 GTGACAAAACCTCACACATGCCAACCGTGCCTCCAGCACCTGA  
 ACTCCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCCCTTCCCCCCCCAAAA  
 CCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTCA 50

CATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGAACCTGAGGT  
 CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT  
 GCCAAGACAAAGCCGGGGAGGGAGCAGTACGCCAGCACGT  
 ACCGTGTGGTCAGCGTCCCTCACCGTCTGCACCCAGGACTG  
 GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCCAACAAA  
 GCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAACCATCTCCAAAGCCA  
 AAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCCTGCC  
 ATCCCCGGGAGGGAGATGACCAAGAACCAAGGTCAAGCCTGACC  
 TGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGG  
 AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAAGAC 10  
 CACGCCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGCTCCCTTCTCC  
 TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG  
 GGAACGTCTTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA  
 CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCTCCGGGT  
 AAATGA (配列番号 164)。

## 【0300】

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21の軽鎖可変配列または配列番号22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165、配列番号166、および配列番号167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

## 【0301】

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23の重鎖可変配列または配列番号24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168、配列番号169、および配列番号170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

## 【0302】

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21の軽鎖可変配列をコードする配列番号161のポリヌクレオチド；配列番号22の軽鎖配列をコードする配列番号162のポリヌクレオチド；配列番号23の重鎖可変配列をコードする配列番号163のポリヌクレオチド；配列番号24の重鎖配列をコードする配列番号164のポリヌクレオチド；配列番号21の軽鎖可変配列または配列番号22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165、配列番号166、および配列番号167）；および配列番号23の重鎖可変配列または配列番号24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168、配列番号169、および配列番号170）。 40

## 【0303】

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Ab3に関して、全長のAb3抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号22の軽鎖配列をコードする配列番号162のポリヌクレオチドおよび配列番号24の重鎖配列をコードする配列番号164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。

## 【0304】

10

20

30

40

50

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 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A b 3 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。

### 【0305】

#### 抗体 A b 4

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 20  
TGTTTATCATAAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAA  
CCAGGGCAGCCTCCCAAACAACTGATCTATGATGCATCCA  
CTCTGGCGTCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAGCAGCAGTGG  
ATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCAGTGCAG  
TGTAACGATGCTGCCGCTTACTACTGTCTGGGCAGTTATG  
ATTGTACTAATGGTGATTGTTTGTGTTTGGCAGGGAC  
CGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC

### 【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  
TGTTTATCATAAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAA  
CCAGGGCAGCCTCCCAAACAACTGATCTATGATGCATCCA  
CTCTGGCGTCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAGCAGCAGTGG  
ATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCAGTGCAG  
TGTAACGATGCTGCCGCTTACTACTGTCTGGGCAGTTATG  
ATTGTACTAATGGTGATTGTTTGTGTTTGGCAGGGAC  
CGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC 40  
TTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
CTGCCCTCTGTTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG  
AGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAA  
TCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTGCCGTACAAAGAGCT  
TCAACAGGGAGAGTAGTTAG(配列番号172)。

### 【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

10

20

30

40

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：

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGTCGCCTGGTCACGCC  
 GGACACCCCTGACACTCACCTGTTCCGTCTCTGGCATT  
 CCTCAGTGGCTACTACATGAACCTGGGTCCGCCAGGG  
 GGGAAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATT  
 GTGCCACATACTACGCGAGCTGGCGAAAGGCCATT  
 CATCTCCAAAACCTCGTCGACCAACGGTGGATCTGA  
 ACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCACCTATTCTGT  
 CCAGAGGGGACATCTGGGGCCGGCACCCCTCGTCA  
 CTCGAGC (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：

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGTCGCCTGGTCACGCC  
 GGACACCCCTGACACTCACCTGTTCCGTCTCTGGCATT  
 CCTCAGTGGCTACTACATGAACCTGGGTCCGCCAGGG  
 GGGAAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTATT  
 GTGCCACATACTACGCGAGCTGGCGAAAGGCCATT  
 CATCTCCAAAACCTCGTCGACCAACGGTGGATCTGA  
 ACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCACCTATTCTGT  
 CCAGAGGGGACATCTGGGGCCGGCACCCCTCGTCA  
 CTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATTGGTCTTCCCC  
 GCACCCCTCCCTCCAAAGAGCACCTCTGGGGGCA  
 TGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAAC  
 CGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCA  
 ACCTTCCCCTGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACT  
 TCAAGCAGCGTGGTGACCGTGGCCCTCCAGCAG  
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGGCCA  
 ACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGGCCAAAT  
 AAACCTCACACATGCCAACCGTGCCCA  
 GGGGGGACCGTCAGTCTTCCCTCTTCCCC  
 GACACCCCTCATGATCTCCCCGGACCC  
 TGTTGGTGGACGTGAGGCCACGAAGAC  
 CCTGGTCAAGGAGTACAGTCAAGGTCT  
 TGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCT  
 CCAGCCCCCATCGAGAAAACC  
 AGCCCCGAGAACCA  
 GGAGGGAGATGACCAAGAAC  
 GTCAAGGCTTCTAT  
 AGCAGTACGCC  
 GTC  
 AGAGCAATGGCAG  
 TCCC  
 AAGCTCACC  
 TCTTCTCAT  
 GCT  
 CT  
 AAG  
 CT  
 ACC  
 (配列番号 174)。 40

【0309】

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。10

#### 【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)。20

#### 【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。30

#### 【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。40

#### 【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50

ドは、配列番号41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：

CAAGTGCTGACCCAGTCCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
 TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAG  
 TGTTTATCATAAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAA  
 CCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATGATGCATCCA  
 CTCTGGCATTCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGG  
 ATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAG  
 CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGCAGTTATG  
 ATTGTACTAATGGTGATTGTTTGTTCGGCGGAGGAAC 10  
 CAAGGTGGAAATCAAACGT(配列番号181)。

### 【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42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：

CAAGTGCTGACCCAGTCCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
 TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAG  
 TGTTTATCATAAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAA  
 CCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATGATGCATCCA  
 CTCTGGCATTCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGG 20  
 ATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAG  
 CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGCAGTTATG  
 ATTGTACTAATGGTGATTGTTTGTTCGGCGGAGGAAC  
 CAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
 TTCACTCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
 CTGCCCTCTGTTGTGCCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG  
 AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATAACGCCCTCCAA  
 TCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA 30  
 AGGACAGCACCTACAGCCTCACAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
 CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
 GTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCT  
 TCAACAGGGAGAGTGTAG(配列番号182)。

### 【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43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：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGGCTTGGTCCAGC  
 CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCCTCTGGAAAT  
 CGACCTCAGTGGCTACTACATGAACCTGGTCCGTCAGGCT 40  
 CCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGTCGGAGTCATTGGTATTAA  
 ATGGTGCCACATACTACGCGAGCTGGCGAAAGGCCGATT  
 CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACACGGTGTATCTT  
 CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGGACACTGCTGTGTATT  
 TCTGTGCTAGAGGGACATCTGGGCCAAGGGACCCCTCGT  
 CACCGTCTCGAGC(配列番号183)。

### 【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44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：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGGCTTGGTCCAGC 50

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 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 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 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 A 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 G 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      10  
 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 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      20  
 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 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 G C C G C G G G A G 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      30  
 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 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 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 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。

40

### 【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

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41の軽鎖可変配列をコードする配列番号181のポリヌクレオチド；配列番号42の軽鎖配列をコードする配列番号182のポリヌクレオチド；配列番号43の重鎖可変配列をコードする配列番号183のポリヌクレオチド；配列番号44の重鎖配列をコードする配列番号184のポリヌクレオチド；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をコードするポリヌクレオチド（配列番号185、配列番号186、および配列番号187）；および配列番号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をコードするポリヌクレオチド（配列番号188、配列番号189、および配列番号190）。 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Ab5に関して、全長のAb5抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号42の軽鎖配列をコードする配列番号182のポリヌクレオチドおよび配列番号44の重鎖配列をコードする配列番号184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、Ab5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、Ab5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Ab5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

### 【0323】

#### 抗体Ab6

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51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：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAG  
TGTTTATCATAAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAA  
CCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATGATGCATCCA  
CTCTGGCATTCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGG  
ATCTGGGACAGATTCACTCTACCATCAGCAGCCTGCA  
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCCTGGGCAGTTATG  
ATTGTACTAATGGTGATTGTTTGTGTTTGGCGGGAGGAAC  
CAAGGTGGAAATCAAACGT（配列番号191）。 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52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：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG 50

TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAG  
 TGTTTATCATAAACACCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAA  
 CCAGGGAAAGTTCCCTAAGCAACTGATCTATGATGCATCCA  
 CTCTGGCATCTGGGTCCCCTCGTTTAGTGGCAGTGG  
 ATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAG  
 CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCCTGGCAGTTATG  
 ATTGTACTAATGGTGATTGTTGTTTCGGCAGGAAAC  
 CAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
 TTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
 CTGCCCTCTGTTGTCGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG 10  
 AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGGTGGATAACGCCCTCCAA  
 TCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  
 AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
 CAAAGCAGACTACGAGAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
 GTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCT  
 TCAACAGGGAGAGTGTAG (配列番号192)。

## 【0325】

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53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：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCCTGGGGAGGGCTTGGTCCAGC  
 CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCCTGGAAAT  
 CGACCTCAGTGGCTACTACATGAACCTGGTCCGTCAGGCT  
 CCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTATT  
 ATGGTGCCACATACAGCGAGCTGGCGAAAGGCCGATT  
 CACCATCTCCAGAGACAATTCAAAGACCAAGGTGTATCTT  
 CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATT  
 TCTGTGCTAGAGGGACATCTGGGCCAAGGGACCCCTCGT  
 CACCGTCTCGAGCGCCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC 20

## 【0326】

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54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：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCCTGGGGAGGGCTTGGTCCAGC  
 CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCCTGGAAAT  
 CGACCTCAGTGGCTACTACATGAACCTGGTCCGTCAGGCT  
 CCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTATT  
 ATGGTGCCACATACAGCGAGCTGGCGAAAGGCCGATT  
 CACCATCTCCAGAGACAATTCAAAGACCAAGGTGTATCTT  
 CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATT  
 TCTGTGCTAGAGGGACATCTGGGCCAAGGGACCCCTCGT  
 CACCGTCTCGAGCGCCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC 40  
 CCCCCCTGGCACCCCTCCACCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAG  
 CGGCCCTGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC  
 GGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCAAGCAGCGGC  
 GTGCACACCTTCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCT  
 ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTT  
 GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCC  
 AGCAACACCAAGGTGGACGCGAGAGTTGAGGCCAAATCTT  
 GTGACAAAAACTCACACATGCCCAACCGTGCCTGCCAGCACCTGA 50

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 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 G 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 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 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      10  
 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 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。      20

## 【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。      30

## 【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）。      40

## 【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      50

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

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTG  
TGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAG  
TGTTTATAATTACAACCTACCTTGCCTGGTATCAGCAGAAA  
CCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
CTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAAAGGCAGTGG  
ATCTGGGACACAGTTCACTCTACCATCAGCGACGTGCA  
TGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATG  
ACTGTAGTACTGGTGATTGTTGTTTCGGCGGGAC  
CGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
TTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
CTGCCCTGTGTTGCGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG  
AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGGTGGATAACGCCCTCCAA  
TCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCT  
TCAACAGGGAGAGTAGTTAG(配列番号201)。  
30

**【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:

CAAGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTGCAGCTG  
TGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAG  
TGTTTATAATTACAACCTACCTTGCCTGGTATCAGCAGAAA  
CCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
CTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGATTCAAAGGCAGTGG  
ATCTGGGACACAGTTCACTCTACCATCAGCGACGTGCA  
TGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATG  
ACTGTAGTACTGGTGATTGTTGTTTCGGCGGGAC  
CGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
TTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
CTGCCCTGTGTTGCGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG  
AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGGTGGATAACGCCCTCCAA  
TCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCT  
TCAACAGGGAGAGTAGTTAG(配列番号202)。  
40  
50

## 【0334】

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63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：

CAGGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGTCTGCCCTGGTCACGC  
 CTGGGACATCCCTGACACTCACCTGCAACCGTCTCTGGAAAT  
 CGACCTCAGTAACCACATGCAATGGGTCCGCCAGGCT  
 CCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGATCGGAGTCTGGTATT  
 ATGGTCGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATT  
 CACCATCTCCAGAACCTCGTCGACCAACGGTGGATCTGAAA 10  
 ATGACCAAGGCTGACAACCGAGGGACACGGGCCACCTATTTCT  
 GTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACCCCTGGTCAC  
 CGTCTCGAGC (配列番号203)。

## 【0335】

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64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：

CAGGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGTCTGCCCTGGTCACGC  
 CTGGGACATCCCTGACACTCACCTGCAACCGTCTCTGGAAAT  
 CGACCTCAGTAACCACATGCAATGGGTCCGCCAGGCT 20  
 CCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGATCGGAGTCTGGTATT  
 ATGGTCGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATT  
 CACCATCTCCAGAACCTCGTCGACCAACGGTGGATCTGAAA  
 ATGACCAAGGCTGACAACCGAGGGACACGGGCCACCTATTTCT  
 GTGCCAGAGGGGACATCTGGGGCCCAGGCACCCCTGGTCAC  
 CGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCC  
 CTGGCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGGGCCACAGCGG  
 CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT  
 GACGGTGTGGAACTCAGGGCCCTGACCAAGCGGGGTG 30  
 CACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT  
 CCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGG  
 CACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGGCCAGC  
 AACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGGCCAAATCTTGTG  
 ACAAAACTCACACATGCCAACCGTGCCTCAGGACTCTACT  
 CCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCC  
 AAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAT 40  
 GCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGAACCTGAGGTCAA  
 GTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC  
 AAGACAAAGCCGGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTAC  
 GTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGCACCAAGGACTGGCT  
 GAATGGCAAGGGAGTACAAGTGCAGGGTCTCCAACAAAGCC  
 CTCCCAAGCCCCCATCGAGAAAAACCATCTCCAAAGGCCAAAG  
 GCGAGCCCCGAGAACCCACAGGTGTACACCCCTGCCCTC  
 CGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTCAGCCTGACCTGC  
 CTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGT  
 GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAACTACAAAGACCA  
 GCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTCTTCCCTCTAC  
 AGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGA  
 ACgtCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAA  
 CCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGTAAA 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。

10

**【 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 ) 。

20

**【 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。

30

**【 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 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。

40

**【 0 3 4 1 】**

抗体 A b 8

50

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：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
 TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAG  
 TGTTTACAATTACAACCTACCTTGCCTGGTATCAGCAGAAA  
 CCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
 CTCTGGCATTCTGGGGTCCCATCTCGTTCACTGGCAGTGG  
 ATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAG 10  
 CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATG  
 ATTGTAGTACTGGTGATTGTTTGTGTTTGGCAGGAAAC  
 CAAGGTGAAATCAAACGT(配列番号211)。

#### 【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：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
 TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAG  
 TGTTTACAATTACAACCTACCTTGCCTGGTATCAGCAGAAA  
 CCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
 CTCTGGCATTCTGGGGTCCCATCTCGTTCACTGGCAGTGG  
 ATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAG 20  
 CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGGCAGTTATG  
 ATTGTAGTACTGGTGATTGTTTGTGTTTGGCAGGAAAC  
 CAAGGTGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
 TTCACTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
 CTGCCCTCTGTTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG  
 AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATAACGCCCTCCAA  
 TCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA 30  
 AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
 CAAAGCAGACTACGAGAACACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
 GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCT  
 TCAACAGGGAGAGTGTAG(配列番号212)。

#### 【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：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGGAGGGCTTGGTCCAGC  
 CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAAT 40  
 CGACCTCAGTAACCACATGCAATGGGTCCGTCAGGCT  
 CCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGTGGAGTCGTTGGTATCA  
 ATGGTCGCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATT  
 CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCAAGGGTGTATCTT  
 CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGATT  
 TCTGTGCTAGAGGGACATCTGGGCCAAGGGACCCCTCGT  
 CACCGTCTCGAGC(配列番号213)。

#### 【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：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTC TGGGGGAGGC TTGGTCCAGC  
 CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCCTCTGGAAAT  
 CGACCTCAGTAACCAC TACATGC AATGGGTCCGTCAGGCT  
 CCAGGGAAAGGGGCTGGAGTG GGT CGGAGTC GTTGGTATCA  
 ATGGTCGCACATAC TACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATT  
 CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACCCACGGTGTATCTT  
 CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGGACACTGCTGTGTATT  
 TCTGTGCTAGAGGGACATCTGGGGCCAAGGGACCCCTCGT  
 CACCGTCTCGAGCGCCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC 10  
 CCCCTGGCACCCCTCCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAG  
 CGGCCCTGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC  
 GGTGACGGTGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAAGCGGGC  
 GTGCACACCTTCCC GGCTGTCC TACAGTCCTCAGGACTCT  
 ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTT  
 GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCC  
 AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGGCCAAATCTT  
 GTGACAAA ACTCACACATGCCCAACCGTGGAGGTGCACCTGA  
 ACT CCTGGGGGACCGTCA GTCTTCCCTTCCCCCAAAA  
 CCCAAGGACACCTCATGATCTCCC GGACCCCTGAGGTCA 20  
 CATGCGTGGTGGTGACGTGAGGCCACGAAGAACCCCTGAGGT  
 CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT  
 GCCAAGACAAAGCCGGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGT  
 ACCGTGTGGTCAGCGTCCCTCACCGTCTGCACCCAGGACTG  
 GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAA  
 GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCA  
 AAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCC  
 ATCCCCGGGAGGGAGATGACCAAGAACCCAGGTCA  
 TGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGG  
 AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAACTACAAAGAC 30  
 CACGCCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCC  
 TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGAGCAGGTGGCAGCAGG  
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGGCTCTGCA  
 CAACCACTACACGCAGAACAGAGCCCTCTCCCTGTTCTCCGG  
 AAATGA (配列番号214)。

#### 【0345】

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（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215、配列番号216、および配列番号217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。

#### 【0346】

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（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218、配列番号219、および配列番号220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。

#### 【0347】

10

20

30

40

50

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。 20

#### 【0349】

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：

CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTG  
TGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAA 40  
TGTTTATAATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA  
CCAGGGCAGCCTCCCAAGCAACTGATCTATTCTACGTC  
CTCTGGCATCTGGGTCTCATCGCGATTCAAGAGGCAGTGG  
ATCTGGGACACAGTTCACTCTACCATCAGCGACGTGCA  
TGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATG  
ATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTGTGTTTCTGGCGGGAGGGAC  
CGAGGTGGTGGTCAAACGT（配列番号221）。 50

#### 【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

チド配列からなる：

CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCCCCCGTGTCTGCAGCTG  
 TGGGAAGCACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAA  
 TGTTTATAATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA  
 CCAGGGCAGCCTCCCAGCAACTGATCTATTCTACGTCCA  
 CTCTGGCATCTGGGTCTCATCGCGATTCAAGAGGCAGTGG  
 ATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGAG  
 TGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATG  
 ATTGTAGTCGTGGTGATTGTTTGTTCGGCGGAGGGAC  
 CGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC 10  
 TTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
 CTGCCTCTGTTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG  
 AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGGTGGATAACGCCCTCCAA  
 TCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  
 AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
 CAAAGCAGACTACGAGAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
 GTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCT  
 TCAACAGGGAGAGTGTAG (配列番号222)。

### 【0352】

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83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

CAGTCGCTGGAGGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCCTG  
 GGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAAATCGG  
 CCTCAGTAGCTACTACATGCAGTGGTCCGCCAGTCTCCA  
 GGGAGGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTAGTGATG  
 GTAAGACATACTACGCGACCTGGCGAAAGGCCGATTCAC  
 CATCTCCAAGACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGAGAATG  
 GCCAGTCTGACAACCGAGGGACACGGCACCTATTCTGTA  
 CCAGAGGGGACATCTGGGGCCCGGGGACCCCTCGTACCGT 30  
 CTCGAGC (配列番号223)。

### 【0353】

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84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：

CAGTCGCTGGAGGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCCTG  
 GGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAAATCGG  
 CCTCAGTAGCTACTACATGCAGTGGTCCGCCAGTCTCCA  
 GGGAGGGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTAGTGATG  
 GTAAGACATACTACGCGACCTGGCGAAAGGCCGATTCAC 40  
 CATCTCCAAGACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGAGAATG  
 GCCAGTCTGACAACCGAGGGACACGGCACCTATTCTGTA  
 CCAGAGGGGACATCTGGGGCCCGGGGACCCCTCGTACCGT  
 CTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTG  
 GCACCCCTCCCAAGAGACACCTCTGGGGCACAGCGGCC  
 TGGGCTGCCTGGTCAAGGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC  
 GGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCCAGCAGCGGCGTGCAC  
 ACCTTCCC GGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC  
 TCAGCAGCGTGGTGACCGTGGCCCTCCAGCAGCAGCTTGGGCAC  
 CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGGCCAGCAAC 50

ACCAAGGTGGACAAAGAGAGTTGAGCCCCAAATCTTGTGACA  
 AAACACTCACACATGCCAACCGTGCCCCAGCACCTGAACCTCCT  
 GGGGGGACCGTCAGTCCTCCCTCTTCCCCAAAACCCAAG  
 GACACCCCTCATGATCTCCC GGACCCCTGAGGTCACATGCG  
 TGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAACCTTGAGGTCAGATT  
 CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTCATAATGCCAAG  
 ACAAAGCCGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTG  
 TGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAA  
 TGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC  
 CCAGCCCCCATCGAGAAAACATCTCCAAGGCCAAAGGGC 10  
 AGCCCCGAGAACCAACAGGTGTACACCCCTGCCCTCATCCCG  
 GGAGGGAGATGACCAAGAACCAAGGTCAAGCTGACCTGCGCTG  
 GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG  
 AGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAAGACCAAGGCC  
 TCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTCTTCTCTACAGC  
 AAGCTCACCGTGGACAAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAACG  
 TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCA  
 CTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGTAATGA  
 (配列番号224)。 20

## 【0354】

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81の軽鎖可変配列または配列番号82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225、配列番号226、および配列番号227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つからなる。

## 【0355】

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83の重鎖可変配列または配列番号84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228、配列番号229、および配列番号230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つからなる。 30

## 【0356】

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81の軽鎖可変配列をコードする配列番号221のポリヌクレオチド；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；配列番号83の重鎖可変配列をコードする配列番号223のポリヌクレオチド；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；配列番号81の軽鎖可変配列または配列番号82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225、配列番号226、および配列番号227)；および配列番号83の重鎖可変配列または配列番号84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228、配列番号229、および配列番号230)。 40

## 【0357】

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Ab9に関して、全長のAb9抗体をコードするポ 50

リヌクレオチドは、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および配列番号 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 5 8 】

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 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、Ab 9 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 9 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

#### 【 0 3 5 9 】

##### 抗体 Ab 10

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 9 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：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAA  
TGTAAACAATAACAACTACCTAGCCTGCTGTTACAGCAGAAA  
CCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
CTCTGGCATCTGGGTCCTCTCGTTCTAGTGGCAGTGG  
ATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAG  
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGCTTGGCAGTTATG  
ATTGTAGTCGTGGTATTGTTTGTGTTCTGGCAGGAAAC  
CAAGGTGAAATCAAACGT(配列番号 231)。  
30

#### 【 0 3 6 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 9 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：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAA  
TGTAAACAATAACAACTACCTAGCCTGCTGTTACAGCAGAAA  
CCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
CTCTGGCATCTGGGTCCTCTCGTTCTAGTGGCAGTGG  
ATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAG  
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGCTTGGCAGTTATG  
ATTGTAGTCGTGGTATTGTTTGTGTTCTGGCAGGAAAC  
CAAGGTGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
TTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
CTGCCCTCTGTTGTGCTGCCATGTAATAACTTCTATCCCAG  
AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGGTGGATAACGCCCTCCAA  
TCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGCAGCAGGAGCAGCA  
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCAGCAGGAGCAGCA  
CAAAGCAGACTACGAGAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
40

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 232)。

## 【0361】

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 93 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 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 10  
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 233)。

## 【0362】

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 94 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 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 20  
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 30  
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 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 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 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 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 40  
G C C A A G A C A A A G C C G C G G G A G 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 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 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 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。

20

### 【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)。

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

## 【0368】

抗体Ab11

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101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：

CAGGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTCCAGCTG  
 TGGGAAGCACAGTCACCATAACTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA  
 CCAGGGCAGCCTCCAAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA 10  
 CTCTGGCATCTGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGG  
 ATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCA  
 TG TGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATG  
 ATTGTAGTAATGGT GATT GTTTGTTT CGGCGGAGGGAC  
 CGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
 【0369】

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102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：

CAGGTGCTGACCCAGACTGCATCCCCCGTGTCTCCAGCTG  
 TGGGAAGCACAGTCACCATAACTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA  
 CCAGGGCAGCCTCCAAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA 20  
 CTCTGGCATCTGGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGG  
 ATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCA  
 TG TGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTATG  
 ATTGTAGTAATGGT GATT GTTTGTTT CGGCGGAGGGAC  
 CGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
 TTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGAA  
 CTGCCCTCTGTTGTGCCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG 30  
 AGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGGTGGATAACGCCCTCCA  
 TCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  
 AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
 CAAAGCAGACTACGAGAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
 GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCT  
 TCAACAGGGAGAGTAGTTAG (配列番号241)。

## 【0370】

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103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：

CAGTCGCTGGAGGGAGTCCGGGGGTCGCCCTGGTCACGCCCTG  
 GAGGATCCCTGACACTCACCTGCAAGTCTCTGGAATCGA  
 CGTCACTAACTACTATATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCA  
 GGGAAAGGGCTGGAATGGATCGGAGTCATTGGTGTGAATG  
 GTAAGAGATACTACGCGAGCTGGCGAAAGGCCGATTCA  
 CATCTCCAAAACCTCGTCGACCCAGGGTGGATCTGAAAATG  
 ACCAGTCTGACAACCGAGGGACACGGCCACCTATTCTGTG  
 CCAGAGGGGACATCTGGGCCCGGGGACCCCTCGTCACCGT  
 CTCGAGC (配列番号243)。

## 【0371】

50

20

30

40

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：

```
CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCCTG
GAGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAAATCGA
CGTCACTAACTACTATATGCAATGGGTCCGCCAGGCTCCA
GGGAAGGGGCTGGAATGGATCAGTCATTGGTGTGAATG
GTAAGAGATACTACGCGAGCTGGCGAAAGGCCGATTAC
CATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGAAAATG
ACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGCACCTATTCTGTG 10
CCAGAGGGCGACATCTGGGGCCCAGGGACCCCTCGTCACCGT
CTCGAGCGCCCTCCACCAAGGGCCCCTCGGTCTTCCCCCTG
GCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCC
TGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC
GGTGTCTGGAAACTCAGGCGCCCTGACCAAGCGGTGAC
ACCTTCCCAGCTGTCCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC
TCAGCAGCGTGGTGACCGTGGCCCTCCAGCAGCTTGGGAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGGCCAGCAAC
ACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGGCCAAATCTTGTGACA
AAACTCACACATGCCAACCGTGCCCCAGCACCTGAACCTCCT 20
GGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAG
GACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCG
TGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAACCTGAGGTCAAGTT
CAAATGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG
ACAAAGCCGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTG
TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCCTGCACCAAGGACTGGCTGAA
TGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCCAACAAAGGCCCTC 30
CCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGGCCAAAGGGC
AGCCCCGAGAACCAACAGGTGTACACCCCTGCCCTCATCCG
GGAGGGAGATGACCAAGAACCAAGGTCAAGCTGACCTGCCTG
GTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG
AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAAGACCCAGCC
TCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTCTTCCTCTACAGC
AAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAACG
TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCA
CTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATGA
(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）。

**【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。

**【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。

**【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：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGAG  
TGTTTACTATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA  
CCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
CTCTGGCATTCTGGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGG  
ATCTGGGACAGATTCACTCTACCATCAGCAGCAGCTGCA  
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTTCTGGGCAGTTATG  
ATTGTAGTAATGGTGATTGTTTGTGTTCTGGCAGGAAAC  
CAAGGTGGAAATCAAACGT (配列番号251)。

10

20

30

40

50

## 【0378】

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：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
 TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCGGGCCAGTCAGAG  
 TGTTTACTATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA  
 C CAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
 CTCTGGCATTCTGGGGTCCCATCTCGTTCACTGGCAGTGG  
 ATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAG 10  
 CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTTCTGGGCAGTTATG  
 ATTGTAGTAATGGTGATTGTTTGTGAGGAGGAAAC  
 CAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
 TTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
 CTGCCCTCTGTTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG 20  
 AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATAACGCCCTCCAA  
 TCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGAGCAGCA  
 AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
 CAAAGCAGACTACGAGAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
 GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCT  
 TCAACAGGGAGAGTAGTTAG (配列番号252)。

## 【0379】

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：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGAGGGCTTGGTCCAGC  
 CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAAAT  
 CGACGTCACTAACTACTACATGCAATGGGTCGGCTCAGGCT  
 CCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTGTGA  
 ATGGTAAGAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATT 30  
 CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCAAGGGTGTATCTT  
 CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGGACACTGCTGTGTATT  
 TCTGTGCCAGAGGGACATCTGGGCCAAGGGACCCCTCGT  
 CACCGTCTCGAGC (配列番号253)。

## 【0380】

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：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGAGGGCTTGGTCCAGC  
 CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAAAT  
 CGACGTCACTAACTACTACATGCAATGGGTCGGCTCAGGCT  
 CCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTCGGAGTCATTGGTGTGA  
 ATGGTAAGAGATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATT  
 CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGACCAAGGGTGTATCTT  
 CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGGACACTGCTGTGTATT  
 TCTGTGCCAGAGGGACATCTGGGCCAAGGGACCCCTCGT  
 CACCGTCTCGAGCGCCCTCCACCAAGGGCCCCATCGGTCTTC  
 CCCCTGGCACCCCTCCACCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAG  
 CGGCCCTGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC  
 GGTGACGGTGTGGAACTCAGGGCCCTGACCAAGCGGGC 40  
 50

GTGCACACCTTCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCT  
 ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTT  
 GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACAGTGAATCACAAAGCCC  
 AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGGCCAAATCTT  
 GTGACAAAACCTCACACATGCCAACCGTGCCTCTTCCCCA  
 ACTCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCA 10  
 CCCAAGGACACCCATGATCTCCCAGGACCCCTGAGGTCA  
 CATGCGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAACCCCTGAGGT  
 CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT  
 GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGGAGCAGTACGCCAGCACGT  
 ACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG  
 GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGGTCTCCAACAAA  
 GCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCA  
 AAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCCTGCC  
 ATCCCAGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTCAGCCTGACC  
 TGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGG  
 AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAACTACAAAGAC  
 CACGCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGCTCCTCTTCCTC  
 TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGAGCAGGTGGCAGCAGG  
 GGAACGTCTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA 20  
 CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCTCGGGT  
 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）。

10

20

30

40

50

## 【0384】

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Ab12に関して、全長のAb12抗体をコードするポリヌクレオチドは、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および配列番号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を含む、あるいはそれらのポリヌクレオチドからなる。

## 【0385】

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、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Ab12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。

## 【0386】

抗体Ab13

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121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：

GCCATCGT GATGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCC  
 CTGTGGGAGACACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTGA  
 GAGTCTTTATAATAAACAAACGCCCTTGGCCTGGTTT CAGCAG  
 AAACCAAGGGCAGCCTCCCCAAGCGGCCCTGATCTATGATGCAT  
 CCAAACCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCA GTGGCGGG  
 TGGGTCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGTGGCGTG  
 CAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTGGAGGGCTACA  
 GAAGT GATAGT GTTGATGGT GTTGCTT CGCCGGAGGGAC  
 CGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
 (配列番号261)。

## 【0387】

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122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：

GCCATCGT GATGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCC  
 CTGTGGGAGACACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTGA  
 GAGTCTTTATAATAAACAAACGCCCTTGGCCTGGTTT CAGCAG  
 AAACCAAGGGCAGCCTCCCCAAGCGGCCCTGATCTATGATGCAT  
 CCAAACCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCA GTGGCGGG  
 TGGGTCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGTGGCGTG  
 CAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTGGAGGGCTACA  
 GAAGT GATAGT GTTGATGGT GTTGCTT CGCCGGAGGGAC  
 CGAGGTGGTGGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
 TTCACTCTTCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
 CTGCCCTCTGTTGTCGCCCTGCTGAATAACTTCTATCCCCAG

10

20

30

40

50

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 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：

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

## 【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：

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

10

20

30

40

50

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 264)。

## 【0390】

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121の軽鎖可変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)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号265、配列番号266、および配列番号267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

## 【0391】

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123の重鎖可変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)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号268、配列番号269、および配列番号270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

## 【0392】

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121の軽鎖可変配列をコードする配列番号261のポリヌクレオチド；配列番号122の軽鎖配列をコードする配列番号262のポリヌクレオチド；配列番号123の重鎖可変配列をコードする配列番号263のポリヌクレオチド；配列番号124の重鎖配列をコードする配列番号264のポリヌクレオチド；配列番号121の軽鎖可変配列または配列番号122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265、配列番号266、および配列番号267)；および配列番号123の重鎖可変配列または配列番号124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268、配列番号269、および配列番号270)。  
30

## 【0393】

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Ab13に関して、全長のAb13抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号122の軽鎖配列をコードする配列番号262のポリヌクレオチドおよび配列番号124の重鎖配列をコードする配列番号264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

## 【0394】

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、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  
50

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 3 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 A b 1 4

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 3 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：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAA  
TGTTTACAATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA  
CCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
CTCTGGCATCTGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGG  
ATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA  
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGCAGTTATG  
ATTGTAGTCGTGGTGAATTGTTTGTTCGGCGGAGGAAC  
CAAGGTGGAAATCAAACGT (配列番号 2 7 1)。 20

### 【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 1 3 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：

CAAGTGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG  
TAGGAGACAGAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAA  
TGTTTACAATAACAACCTACCTAGCCTGGTATCAGCAGAAA  
CCAGGGAAAGTTCTAAGCAACTGATCTATTCTACATCCA  
CTCTGGCATCTGGGTCCCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGG  
ATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA  
CCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCTGGCAGTTATG  
ATTGTAGTCGTGGTGAATTGTTTGTTCGGCGGAGGAAC  
CAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC  
TTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
CTGCCCTCTGTTGTGCCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG  
AGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGGTGGATAACGCCCTCCAA  
TCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCT  
TCAACAGGGAGAGTGT TAG (配列番号 2 7 2)。 40

### 【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 1 3 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：

GAGGTGCAGCTTGTGGAGTCTGGGGAGGGCTTGGTCCAGC  
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAAAT  
CGGCCCTCAGTAGCTACTACATGCAATGGGTCCGTCAGGCT  
CCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGTCCGAGTCATTGGTAGTG  
ATGGTAAGACATACTACGCGACCTGGCGAAAGGCCGATT 50

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 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273)。

## 【0398】

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134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 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 20  
 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 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 30  
 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 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 G C 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 40  
 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274)。

## 【0399】

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(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275、配列番号276、および配列番号277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。

## 【0400】

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)。

10

#### 【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。

20

#### 【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、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、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。

30

#### 【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<sub>H</sub>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<sub>H</sub>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。

40

#### 【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<sub>L</sub>抗体アミノ酸配列

50

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（F R 残基）がウサギ抗C G R P抗体のV<sub>L</sub>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。 10

#### 【0407】

別の実施形態では、本発明は、抗C G R P抗体に由来する少なくとも1つのC D R ポリペプチドを含むポリペプチドであって、前記の発現したポリペプチドだけでC G R Pに特異的に結合するポリペプチド、または抗C G R P抗体に由来する少なくとも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併せて発現すると、前記の発現したポリペプチドがC G R Pに特異的に結合する、前記の少なくとも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、または配列番号133のV<sub>L</sub>ポリペプチドまたはV<sub>H</sub>ポリペプチドに含まれるC D R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。 20

#### 【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（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。 30

#### 【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C G R P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C G R P抗原特異的細胞はC G R P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C G R P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。 40

#### 【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C G R P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 50

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）。

10

#### 【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号；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）。

20

#### 【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。

30

#### 【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。

40

#### 【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ーを含有するが、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】

50

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、硫安沈殿、アフィニティカ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。参考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に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相関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相関させることができると可能になる。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。10

#### 【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、免疫プ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、メリーランド州ガイサーズバーグ）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。20

#### 【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30

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、一般的の頭痛、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、副鼻洞性頭痛（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。40

#### 【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50

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、帯状疱疹後神経痛、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、膀胱炎、腎仙痛、月経困難、間質性膀胱炎（I C）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、慢性膀胱炎や急性膀胱炎に関連する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、膀胱癌、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、神經および中空臓器に浸潤する腫瘍、神經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、癌性疼痛は内臓痛を含み、好ましくは、膀胱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

#### 【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。  
20

#### 【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、帯状疱疹後神経痛、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。  
30

#### 【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内臓痛、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、搔痒症、または膀胱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  
40

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 8-37 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。10

#### 【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фин、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、プロポキシフェン、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。20

#### 【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ニ酸誘導体；(2) トルメチン、スリン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) などのビ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、ナブメトニン (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。3040

#### 【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 C G R P 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 C G R P 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、C G R P 活性または C G R P 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 C G R P 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。

#### 【 0 4 4 2 】

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 C G R P 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有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、C G R P 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。

#### 【 0 4 4 3 】

##### 投与

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、対象レシピエントの体重 1 k g あたり約 0 . 1 ~ 1 0 0 . 0 m g 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 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、対象レシピエントの体重 1 k g あたり約 0 . 4 m g 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 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、2 6 週間に 1 回またはそれより低い頻度、例えば 1 6 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。

#### 【 0 4 4 4 】

F a b 断片の投与は、2 週間に 1 回またはそれより低頻度、1 週間に 1 回またはそれより低頻度、1 日に 1 回またはそれより低頻度、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 . 1 m g / k g ~ 4 0 m g / k g の F a b 断片を、1 日 1 ~ 6 回の分割量で、または所望の結果を得るために有効な徐放形態で投与される。

#### 【 0 4 4 5 】

所与の患者に投与する抗体または F a b の濃度は、上記の段落 [ 0 4 3 7 ] および [ 0 4 3 8 ] 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。

#### 【 0 4 4 6 】

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 &

10

20

30

40

50

Wilkins、およびGolan, D. E. (2008). *Principles of pharmacology: the pathophysiological 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。

#### 【0447】

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、医薬製剤の形で対象に投与する。

#### 【0448】

「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。

#### 【0449】

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、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、TNF、IL 2、IL 4、IL 6、IL 10、IL 12、IL 13、IL 18、IFN、IFN、BAFF、CXCL13、IP 10、VEGF、EPO、EGF、HRG、肝細胞増殖因子(HGF)、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、アモキシプリン(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、プロムフェナク、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、COX 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、インドブロフェン、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(NGF)、オキサメタシン、オキサブロジン、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、ビルプロフェン、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。

#### 【0450】

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、アクリバストチン、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(betahistamine)、プロムフェニラミン、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、CS560、シプロヘプタジン、デスロラタジン、デクスクロ

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、H S R 6 0 9、ヒドロキシジン、レボカバスチン、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、フェニンダミン、プロメタジン、ピリラミン、テルフェナジン、およびトランニラストが含まれるが、これらに限定されない。

#### 【0451】

抗生素質の例には、アミカシン、アミノグリコシド類、アモキシシリソ、アンピシリソ、アンサマイシン類、アルスフェナミン、アジスロマイシン、アズロシリソ、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、カルベニシリソ、セファクロール、セファドロキシル、セファレキシソ、セファロチソ (Cefalothi)、セファロチソ (Cefalotin)、セファマンドール、セファゾリソ、セフジニル、セフジトレン、セフェビム、セフィキシム、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフォキシチソ、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、セフトビブロール、セフトリアキソ、セフロキシム、セファロスボリン類、クロラムフェニコール、シラスタチソ、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、クロキサシリソ、コリスチソ、コトリモキサゾール、ダルホブリスチソ、デメクロサイクリン、ジクロキサシリソ、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、フルクロキサシリソ、ホスホマイシン、フラゾリドン、フジジン酸、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、メチシリソ、メトロニダゾール、メズロシリソ、ミノサイクリン、モノバクタム類、モキシフロキサシン、ムピロシリソ、ナフシリソ、ネオマイシン、ネチルマイシン、ニトロフラントイソ、ノルフロキサシン、オフロキサシン、オキサシリソ、オキシテトラサイクリン、パロモマイシン、ペニシリソ、ペニシリソ類、ピペラシリソ、プラテンシマイシン、ポリミキシソ 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、キヌブリスチソ、リファンピシソ、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、チカルシリソ、チニダゾール、トブラマイシン、トリメトブリム、トリメトブ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、およびトリアムシノロノンも含まれる。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学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、

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、マイクロエマルション、リポソーム、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

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日に出願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日に出願され名称「Novel Rabbit Antibody Humanization Methods and Humanized Rabbit Antibodies」の国際公開第2008/144757号に対応）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。10

【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日に出願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ンベール、およびベイケム（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SK-N MC中でCGRPに誘起されるcAMP增加の阻害により、血清力値を測定した。40

【0469】

抗体選択力値の評価

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

10

20

30

40

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、ELISA緩衝液(PBS中0.5%の魚皮ゼラチン、pH7.3)中に希釈されたN末端ビオチン化ヒトCGRP(1ウェルあたり50μL、1μg/mL)をコーティングした。次に、室温でプレートをELISA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(PBS、0.05%ツイーン20)で洗浄した。ELISA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50μL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Fc-HARP(ELISA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、TMB基質を使用して室温で2分間プレートを現像し、0.5MのHClを使用して反応物をクエンチした。ウェルの吸光度を450nmで読み取った。  
10

#### 【0470】

##### 機能活性による血清試料の力価測定(CGRP誘発性cAMP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カバリー、MSD社)を使用してCGRP誘発性cAMP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MSDアッセイ緩衝液(Hepes、MgCl<sub>2</sub>、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10ng/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(PBS中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、抗生素)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、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20μL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。10μL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、20μL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(MSD)を水で4倍に希釈し、100μL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。  
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、20ccシリンジのプランジャーを用いて70μm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PBS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1500rpmで10分間遠心分離し、上清を廃棄した。FBS(ハイクロン)中の適量の10%ジメチルスルホキシド(DMSO、シグマ)中に細胞を再懸濁して、1ml/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】

FBS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(PBMC)を単離した。8mlのLympholyte Rabbit(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PBM C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、PBM C、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2K RPM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°C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ク、カリフォルニア州オーバーン)/10E7細胞を、細胞懸濁液に添加した。細胞およびビーズを4°Cで15分間インキュベートし、10E7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hucGDPと混合し(最終濃度10ug/ml)、300μlのPBFと混合した。この混合物を4°C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°C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)MSカラム(ミルテニーバイオテク、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50K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20070269868号を参照)(調製に応じて1~5%の範囲)を含有し、最終体積は250μl/ウェルであった。培養物を、37、4%CO<sub>2</sub>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50μL、各1μg/mL)。B細胞上清試料(50μL)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(20μL)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200μlの培養液(10%完全RPMI、55μM 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、100μl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、インピトロジェン)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4×10E7のコーティング済みビーズの入った100μl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15μl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】

20μl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 coat(シグマ)で処理した1ウェルのガラススライドに、5μl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%CO<sub>2</sub>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Alu I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導するベクターを、HEK 293細胞に形質移入した。

#### 【0486】

##### E L I S A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E L I S A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、Immulation 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 μt / 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、BioFx）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450 nm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、MgCl<sub>2</sub>、pH 7.3、1 mg / 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25 ng / 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（5 mM）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、抗生素）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 mL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、50 mM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0.2 mM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 μl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 μl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 μl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

$\mu\text{L}$ 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10ng/mL)。ラットCGRP (最終濃度5ng/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 10 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。

#### 【0491】

##### 実施例2 酵素によるFab断片生産

固定化パパイン (サーモ/ピアス) を使用して、製造者の指示に従ってパ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、固定化パパインを遠心分離で除去し、50mMトリスpH7.5で洗浄し、濾過した。MabSelectSure (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リ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的な要素を含む。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。

30

#### 【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

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 Cregg, 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 S (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。サザンプロット分析により、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プロットに供し、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, ForteBio)。

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 % 、 Y N B 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、30 で約 24 時間、300 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、10 % 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 18 . 2 g / L 、 第一リン酸アンモニウム 36 . 4 g / L 、 リン酸水素二カリウム 12 . 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 、 P T M 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 。 P T M 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 。

#### 【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 : 搅拌 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。

#### 【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 P T M 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。

#### 【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。

#### 【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、<sup>125</sup>I で放射

10

20

30

40

50

標識されたヒトCGRP (0.03 nM)と共に室温で30分間プレインキュベートした。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<sup>125</sup>I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2×6 cm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ヤーを使用した。633 nm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(2×6 cm)の剪毛領域に向か、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ー・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O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Oリング(直径1 cm未満)を置き、ベースライズスキャンを実施した。スキャン完了の直後、2つの各Oリングの内側に5 μLのエタノール：アセトン溶液(1:1)中1 mg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分後にドブラー・スキャンを繰り返し実施した。2つの各O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関連し、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 Neuosci (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 2011 / 024113 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・ラブルレル) 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 cm<sup>2</sup>) に 3 匹ずつ収容し、食物 (Teklad 2016 glo bal 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 (Souralit 2912 plus、Souralit、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 (初期午前 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) とシリンドリポンプ (70 2208 Model II plus、Harvard Apparatus 社、フランス、レ・ジュリス、および Razell R 99E、Fisher Bioblock 社、フランス、イルキルシュ) に接続した。Power Lab インタフェース (ADI 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 764 7 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 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ヂ (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

10

20

30

40

50

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(s.c.))。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、ADInstruments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76-74-4)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±標準誤差(±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ドント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ドント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ドント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 ~ 225 g 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徵候がないかどうかも調べた。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】

20

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。

## 【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 日前にラットのベースライン閾値を試験した。

## 【0528】

30

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、横突起を穩やかに切り取って、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 級縫合糸で結紮した。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 ~ 5.0 mL) を皮下注射により動物に投与した。

## 【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なった。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を静脈内ボーラス（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。

10

**【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）。

20

**【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）

30

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

40

動物：雄のSprague Dawley由来の体重 $150 \pm 20\text{ g}$ 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、pH 5.5

**【0539】**

鎮痛化合物：モルヒネ

**【0540】**

テールフリック応答手順：体重 $150 \pm 20\text{ g}$ 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

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 *S prague 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日目に単回ボー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。

10

#### 【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力値を分析した。

20

#### 【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。

30

#### 【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】

40

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

50

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(De lafay et al., 2006, Gut 55:940-5)、CGRPアンタゴニストペプチド(CGRP8-37)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、50mg/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5mg/kg/ケタミン30mg/kg)で、結腸の近位部(盲腸から1cm)にTNBS(50mg/kg、1ml/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10mg/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(AI Chaer et al., Gastroenterology 2000, 119:1276-1285)、痛覚マークとして使用される(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10cm位置に、最も侵襲が少ない方法でバルーン(5cm)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5mmHgから75mmHg(カットオフ)まで30秒ごとに5mmHg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】**

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

**【0561】**

拡張閾値<sub>処置</sub>は「処置」群の値の算術平均であり、拡張閾値<sub>TNBS</sub>は「TNBS」群の値の算術平均であり、拡張閾値<sub>無処置</sub>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（ $p < 0.05$  スチュードントの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唆す。 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')<sub>2</sub>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 関連疼痛をともなう状態、体重減少、癌または腫瘍、過活動膀胱、尿失禁、搔痒症、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、副鼻洞性頭痛（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、クローキン病、回腸炎、潰瘍性大腸炎、腎症痛、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。  
10

[ 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。  
30

[ 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）。  
40

[ 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。  
50

[ 態様 3 2 ] 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 C G R P 抗体または断片を投与することを含む治療方法。

[ 態様 3 3 ] 前記疾患または状態が、C G R P 発現細胞と関連するものである、態様 3 2 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 C G R P 抗体または断片の治療的有効量。

[ 態様 3 4 ] 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、副鼻洞性頭痛（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、腎症痛、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 3 2 または 3 3 記載の方法。10

[ 態様 3 5 ] 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；搔痒症、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 3 2 または 3 3 記載の方法。

[ 態様 3 6 ] 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 3 2 または 3 3 記載の方法。30

[ 態様 3 7 ] 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 3 2 または 3 3 記載の方法。

[ 態様 3 8 ] 前記鎮痛剤が、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別の鎮痛生物製剤である、態様 3 7 記載の方法。

[ 態様 3 9 ] 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 3 8 記載の方法。

[ 態様 4 0 ] 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 3 8 記載の方法。

[ 態様 4 1 ] 前記他の鎮痛剤がN G F 抗体または抗体断片である、態様 3 7 記載の方法。40

[ 態様 4 2 ] C G R P 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 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 4 3 ] 前記投与が、C G R P 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オアの投与をさらに含む、態様 4 2 記載の方法。

[ 態様 4 4 ] 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 4 2 記載の方法。

[ 態様 4 5 ] 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<sub>H</sub> 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 CGRP 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 (FR) または CDR 残基が別のアミノ酸残基で置換され、その結果 CGRP に特異的に結合する抗 CGRP 抗体が得られる、単離された抗 CGRP 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 CGRP 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 (FR) または CDR 残基が別のアミノ酸残基と置換され、その結果、CGRP に特異的に結合する抗 CGRP 抗体が得られる、単離された抗 CGRP 抗体または抗体断片。

[ 態様 47 ] 1 つ以上の前記 FR 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 (CDR) が由来する親ウサギ抗 CGRP 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 CDR 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 CDR 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 Fc を含む、態様 50 または 51 記載の抗体。

[ 態様 54 ] 前記ヒト Fc が IgG1、IgG2、IgG3、または IgG4 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、CGRP と CGRP-R および／またはそのマルチマー、CGRP-CGRP-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效果を拮抗する、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 CGRP 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 CGRP 抗体または抗体断片。

[ 態様 58 ] 前記抗体が CGRP と  $10^{-4}$  S<sup>-1</sup>、 $5 \times 10^{-5}$  S<sup>-1</sup>、 $10^{-5}$  S<sup>-1</sup>、 $5 \times 10^{-6}$  S<sup>-1</sup>、 $10^{-6}$  S<sup>-1</sup>、 $5 \times 10^{-7}$  S<sup>-1</sup>、または  $10^{-7}$  S<sup>-1</sup> 以下の解離速度 (K<sub>off</sub>) 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、CGRP と CGRP-R および／またはそのマルチマーとの複合体の產生、ならびに CGRP と 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產生を阻害する、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 6 0 ] 前記断片が、F a b 断片、F a b ' 断片、またはF ( a b ' )<sub>2</sub> 断片から選択される、態様 4 5 ~ 5 9 のいずれか 1 項に記載の抗体断片。

[ 態様 6 1 ] 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 4 5 ~ 6 0 のいずれか 1 項に記載の抗体または抗体断片。

[ 態様 6 2 ] 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 6 1 記載の抗体または抗体断片。

[ 態様 6 3 ] 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 6 2 記載の抗体。

[ 態様 6 4 ] 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 6 2 記載の抗体。 10

[ 態様 6 5 ] 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 4 5 ~ 6 4 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 6 6 ] 前記疾患が C G R P の増加と関連する、態様 6 5 記載の方法。

[ 態様 6 7 ] 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、副鼻洞性頭痛（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、卵巢痛、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、腎症痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前列腺炎、または膜炎から選択される、態様 6 5 または 6 6 記載の方法。 20

[ 態様 6 8 ] 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；搔痒症、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 6 5 または 6 6 記載の方法。 30

[ 態様 6 9 ] 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 6 5 または 6 6 記載の方法。

[ 態様 7 0 ] 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 6 5 ~ 6 9 のいずれかに記載の方法。 40

[ 態様 7 1 ] 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 6 5 ~ 6 9 のいずれかに記載の方法。

[ 態様 7 2 ] 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 7 1 記載の方法。

[ 態様 7 3 ] 前記他の治療薬が鎮痛剤である、態様 7 1 記載の方法。

[ 態様 7 4 ] 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 7 3 記載の方法。

[ 態様 7 5 ] 前記抗体が N G F 抗体または抗体断片である、態様 7 4 記載の方法。 50

[ 態様 7 6 ] 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 N S A I D である、態様 7 3 記載の方法。

[ 態様 7 7 ] N S A I D 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 7 6 記載の方法。

[ 態様 7 8 ] 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 7 3 記載の方法。 10

[ 態様 7 9 ] 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から選択されるオピオイド鎮痛剤またはその薬剤的に許容される塩である、態様 7 3 記載の方法。

[ 態様 8 0 ] 前記オピオイド鎮痛剤および C G R P 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 7 8 または 7 9 記載の方法。 20

[ 態様 8 1 ] 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剤的に許容される塩である、態様 7 9 記載の方法。

[ 態様 8 2 ] 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 4 5 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；

( i i ) 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チ融合によって產生し； 30

( 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 ) 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產生する

ことを含む、方法。

[ 態様 8 3 ] 前記酵母属がピキアである、態様 8 2 記載の方法。

[ 態様 8 4 ] 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 8 3 記載の方法。

[ 態様 8 5 ] 前記ピキア種がピキア・パストリスである、態様 8 3 記載の方法。

[ 態様 8 6 ] 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 から選択される抗 C G R P 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 9 0 % 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 8 7 ] 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 ( F R 残基 ) がウサギ抗 C G R P 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 C G R P V H 抗体アミノ酸配列をコード化する、請求項 8 6 記載の単離されたポリヌクレオチド。

[ 態様 8 8 ] 態様 8 6 または 8 7 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 8 9 ] 前記宿主細胞がピキア属に属する酵母細胞である、態様 8 8 記載の宿主

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<sub>L</sub> 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<sub>L</sub> 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<sub>L</sub> 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<sub>L</sub> 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<sub>L</sub> 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<sub>L</sub> 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<sub>H</sub> 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<sub>L</sub> 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<sub>H</sub> 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<sub>L</sub> 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。 10

[ 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。 20

[ 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。 20

[ 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。 30

[ 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。 40

[ 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、副鼻洞性頭痛（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 50

又後神経痛、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、腎症痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、または膀胱から選択される、態様 118 記載の方法。

[ 態様 120 ] 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；搔痒症、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 118 記載の方法。  
10

[ 態様 121 ] 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 118 記載の方法。

[ 態様 122 ] 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 118 記載の方法。

[ 態様 123 ] 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 122 記載の方法。  
20

[ 態様 124 ] 前記他の治療薬が鎮痛剤である、態様 122 記載の方法。

[ 態様 125 ] 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 122 記載の方法。

[ 態様 126 ] 前記抗体が NGF 抗体または抗体断片である、態様 125 記載の方法。  
。

[ 態様 127 ] 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 125 記載の方法。

[ 態様 128 ] 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はじめとするオキシカムから選択される、態様 127 記載の方法。  
30

[ 態様 129 ] 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 124 記載の方法。

[ 態様 130 ] 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剤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 124 記載の方法。  
40

[ 態様 131 ] 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 129 または 130 記載の方法。

[ 態様 132 ] 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剤的に許容される塩である、態様 131 記載の方法。

[ 態様 133 ] 態様 98 ~ 116 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 10 ~ 25 mg / 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

ス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 10 ~ 25 mg / 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 134 ] 前記酵母属がピキアである、態様 133 記載の方法。

[ 態様 135 ] 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ヌラ・ポリモルファ（ピキア・アンゲスタ）から選択される、態様 134 記載の方法。

[ 態様 136 ] 前記ピキアの種がピキア・パストリスである、態様 135 記載の方法。

[ 態様 137 ] 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ス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ス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<sub>L</sub> または V<sub>H</sub> ポリペプチドに含まれるものから選択される、単離されたポリスクレオチド。

[ 態様 138 ] 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 137 記載の単離されたポリス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ス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<sub>L</sub> もしくは V<sub>H</sub> ポリペプチドに含まれるものから選択される、ポリスクレオチド。

[ 態様 139 ] 態様 137 または 138 記載の少なくとも 1 つのポリスクレオチド配列を含むベクター。

[ 態様 140 ] 態様 139 記載のベクターを含む宿主細胞。

[ 態様 141 ] 前記宿主細胞がピキア属に属する酵母細胞である、態様 140 記載の宿主細胞。

[ 態様 142 ] 前記異種性ポリスクレオチドが、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<sub>L</sub> もしくは V<sub>H</sub> 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スクレオチド配列を含む、態様 133 記載の方法。

[ 態様 143 ] 態様 1 ~ 22 または 99 ~ 116 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剤的に許容される担体を含む、医薬または診断組成物。

[ 態様 144 ] 少なくとも 1 つの安定剤をさらに含む、態様 143 の医薬または診断組成物。

[ 態様 145 ] 凍結乾燥される、態様 143 もしくは 144 記載の医薬または診断組成物。

[ 態様 146 ] 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。 10

[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、副鼻洞性頭痛（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、クローグン病、回腸炎、潰瘍性大腸炎、腎症痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、または肺炎から選択される、態様150記載の方法。 20

[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。 30

[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；搔痒症、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。 40

[態様155] CGRP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。 50

[ 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) トルメチレンおよびスリン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剤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剤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、副鼻洞性頭痛（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、卵巢痛、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、腎盂痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、または膀胱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单鎖抗体である、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 ] C G R P と C G R P 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 C G R P 抗体断片。

[ 態様 174 ] 前記抗体断片が A b 2、A b 3、A b 5、A b 6、A b 13 もしくは A b 14 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 C G R P 断片。

[ 態様 175 ] 前記抗体が A b 3、A b 6、A b 13 または A b 14 またはその断片である、態様 174 記載の単離された抗 C G R P 抗体または断片。

[ 態様 176 ] A b 3、A b 6、A b 13 または A b 14 と同じ C D R を含む、態様 174 記載の単離された抗 C G R P 抗体または断片。

[ 態様 177 ] C G R P と C G R P Rとの会合を阻害する、有効量の抗 C G R P 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 A b 3、A b 6、A b 13 または A b 14 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 A b 3、A b 6、A b 13 または A b 14 と同じ C D R 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、腎症痛、月経困難、膀胱炎、月経期、分娩、閉経、前立腺炎、乾癐、I B D、または脾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 A b 3、A b 6、A b 13 もしくは A b 14 であるか、または抗体断片が A b 3、A b 6、A b 13 もしくは A b 14 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 A b 3、A b 6、A b 13 または A b 14 と同じ C D R を含む、態様 180 記載の方法。

[ 態様 183 ] C G R P と C G R P Rとの会合を阻害する、有効量の抗 C G R P 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 A b 2、A b 3、A b 5、A b 6、A b 13 もしくは A b 14 であるか、または抗体断片が A b 2、A b 3、A b 5、A b 6、A b 13 もしくは A b 14 から誘導される、態様 183 記載の方法。

[ 態様 185 ] C G R P と C G R P Rとの会合を阻害する、有効量の抗 C G R P 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 A b 2、A b 3、A b 5、A b 6、A b 13 もしくは A b 14 であるか、または抗体断片が A b 2、A b 3、A b 5、A b 6、A b 13 もしくは A b 14 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 A b 2、A b 3、A b 5、A b 6、A b 13 または A b 14 と同じ C D R を含む、態様 185 記載の方法。

[ 態様 188 ] C G R P 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 C D R 1、C D R 2、および C D R 3 ポリペプチド配列ならびに可変重鎖 C D R 1、C D R 2、および C D R 3 ポリペプチド配列を含む、抗 C G R P 抗体または抗体断片：

【表 1 a】

	V <sub>L</sub> C DR 1	V <sub>L</sub> C DR 2	V <sub>L</sub> C DR 3	V <sub>H</sub> C DR 1	V <sub>H</sub> C DR 2	V <sub>H</sub> 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

。

[ 態様 189 ] 前記抗体断片が、scFv、キャメルボディ、ナノボディ、IgNA R（サメ由来の单鎖抗体）、Fab、Fab'、またはF(ab')2断片である、態様 188 記載の抗 CGRP 抗体または抗体断片。

[ 態様 190 ] 前記抗体断片がFab断片である、態様 188 記載の抗 CGRP 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 CGRP 抗体または抗体断片：

10

20

30

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 C G R P 抗体または抗体断片。

[ 態様 197 ] I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 抗体である、態様 196 記載の抗 C G R P 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 F c 領域を含む、態様 188～196 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 199 ] 前記 F c 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 C G R P 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 10 、態様 188～199 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 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 C G R P 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 C G R P 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 C G R P 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 C G R P 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重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 C G R P 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重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 C G R P 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 C G R P 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 C G R P 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 1 - 1】

Ab 1 可変領域鎖 (キメラ) タンパク質配列。CDR 1: 太字; CDR 2: 下線; CDR 3: 斜体。

IVLQTASPVSAVGSTTYTINCQASOSVINYNNLYAWYQQKPGOPPKQLIYSTSILASGVSSRFKGSGSTQFLTISDLECA  
AAATYCCLGSDCSDGCFYGGTEVVKR (側面番号： 5, 6, 7のそれぞれ)

b1可変領域鎖（キメラ）DNA配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：斜体。

Ab1

【 図 1 - 2 】

Ab2

## Ab 2重鎖(ヒト化) 完全長タンパク質配列－ほ乳動物產生

OMNISSA RADIATI AYCAR DINGQOL TYSASSATKESVPLAHSKSTGCAUGL VDYPPEPTVWSNGKALITSVL  
HIFPA VLOPSVSEHDPEVKWNYTQVNEVINKAPTSKUKEPVKCDTGPAPLLGSPVLPKVLKQD  
PUSITIKAQREHQVTPLSRPEVQKSLVLUKGPKVHUYNITOKSISLSPK  
KRQWQNNFCSVSCHAHUNITYOKSISLSPK  
(参考書例) : 14

Ab 2 可変領域重積 (ヒト化) タンパク質配列

b1重鎖(キメラ)完全長DNA配列

【 図 1 - 2 】

b 1 緩衝液 (キメラ) 完全タンパク質配列  
 LIVLTQATSPVAAAGTSTVTCNCOASOVSYDINYLWAOCKPGOPKOLYSTSIALGSSREKGSSGTOFTLJISLECAD  
 CAAGCCACATCGCTTGCGTGTGGAGACAACTGAGCCGAGAACACTAAGGCAAGGAGGTGAGGAGGAACTCTACAGCTC  
 GTGATGATCATAGGCTCTGACAACCACTACAGCAGAAGGCTCTCCCTGTTCCGGTTAAATGA (例別番号 : 144)  
 b 1 可変領域鎖 (キメラ) タンパク質配列  
 ATYCLGYDOSSGCFVGGGTEVVKRTVAISYFIPSDEOLKGATGATSYVCLNNFYPREAKVQWVKDNALQSNS  
 ESEVTEQSKDSTYSLSTLSSKADYEHKKVYACEVTQGLSSPVTKFSNRGE (例別番号 : 2)

ATTCYCLGSYDSSGDCFVFGGTTEVVVKR (配列番号：1)



### 【図3-3】

### 【図4-2】

【図4-1】

【 図 4 - 3 】

【図 5 - 1】

Ab5

Ab 5 鋼鏡（ヒト化）完全長DNAs配列  
参考番号：182)

Ab6

Ab 6 重鎖（ヒト化）完全長タンパク質配列—酵母產生

1.b.6 可変鍵重鎖(ヒト化)タンパク質配列

【図 6 - 1】

## Ab<sub>5</sub>重鎖（ヒト化）完全長DNA配列－哺乳動物產生

△ 1.5 順繩 (ヒトヒ) 完全長タバク質配列  
QVLTQSPSLSASVGERTVTCINCOASOSYNTLYAWQKPKVQLIYDASTLASGVPSRFSGGSDFTLTLTSSLQPED  
VATYCYGLSYDCTNDCFEGGTGTVKERTVTAATPSFEIPLPDLQKTSVWLNNFREAKYQWKVDNALQSGNS  
QESEVTDQSKDTSLSTLKSADYKEHVKAETVHQGSSPVTKSNRGC (配列番号：42)

△ 1.5 可変領域鎖 (ヒトヒ) タバク質配列  
QVLTQSPSLSASVGERTVTCINCOASOSYNTLYAWQKPKVQLIYDASTLASGVPSRFSGGSDFTLTLTSSLQPED  
VATYCYGLSYDCTNDCFEGGTGTVKERTVTAATPSFEIPLPDLQKTSVWLNNFREAKYQWKVDNALQSGNS  
QESEVTDQSKDTSLSTLKSADYKEHVKAETVHQGSSPVTKSNRGC (配列番号：41)

【図5-3】

【図5-2】

5重鎖(ヒト化)完全DNA配列-1は乳動物產生

○ 5種類 (ヒト) 完全長タンパク質列  
LTQGSPSSLASVGRVTRINCOASQSYNTLVYQQPKVKQLIYDASTLAVGSPRSFSGSGDFLTLSLQPED  
TYCUCGSDTCDNGCFVGGTGVKVERTRVAAFSVTEIFPPLDQLKSATASVVLNNFYREAKYQWKVDNALQSGNS  
SYTEQDSKSTSYSLTSKLADYEVKVAEVTHQGSSPVTKSFRNCGC (配列番号：42)  
○ 5 種類 (ヒト) タンパク質列  
LTQGSPSSLASVGRVTRINCOASQSYNTLVYQQPKVKQLIYDASTLAVGSPRSFSGSGDFLTLSLQPED  
TYCUCGSDTCDNGCFVGGTGVKVERTRVAAFSVTEIFPPLDQLKSATASVVLNNFYREAKYQWKVDNALQSGNS  
○ 5 可変領域強度 (ヒト) タンパク質列  
LTQGSPSSLASVGRVTRINCOASQSYNTLVYQQPKVKQLIYDASTLAVGSPRSFSGSGDFLTLSLQPED  
TYCUCGSDTCDNGCFVGGTGVKVERTRVAAFSVTEIFPPLDQLKSATASVVLNNFYREAKYQWKVDNALQSGNS  
○ 5 種類 (ヒト) ベルト番号 (41)

【図 6 - 2】

Ab 6重鎖(ヒト化)完全長DNA配列一群母產生

A b. 7 变异链球菌(キメラ) DNA型例 CDR 1 : 太字 ; CDR 2 : 下線 ; CDR 3 : 鋸体。  
 CAGGAGGACTGGGGCTCCGTGCGCTTCACTACGCGTACGACTGACCTGACCTTGAA  
 ATTCGACTCTAATGACACTACGCTAACATGCAATTAATGATGCTCATACTAGCGGCT  
 TTTATATGCTGCCATACTAGCGGCTGGCGAAAGCGCTACCATCTCCAGAACCTGAC  
 TTTGGAAAGGGGACGACTATTCTGSCACAGGGGACGACTATTCTGSCACAGGGGAC  
 CTGGTACCGCTTGGAC (別冊参考書 : 03)

b 7重鎖(キメラ)完全長DNA配列

b7整鏡(キメラ) 完全長タンク質配列

b.7 可変領域鉤(キメラ) タンバク質配列

Ab 6重鎖(ヒト化)完全長DNA配列—酵母產生

### Ab 6 軽鎖(ヒト化) 完全長タンパク質配列

ア b 6 可変領域鎖（ヒト）ターバク質列  
QVLTQPSVLSASVDRYNTVQASOVSQVYVNTVYQVQPKVVKQLIYDASTLAVGVPRESGSGTDFLTLSQFLPED  
VATYCLGSDYDTCFVGGTQVKEIRVTAAPSFQPFQDLSKTSVASWYNSPEAKRQVWVDNALQSNS  
QSVTEQDKSDTSLSTLSDADYEKHVYACEVTHQGLSSPVTSFRGEC (測定番号：52)

可変領域鎖（ヒト化）タンパク質配列。CDR1

可變領域鎖（上-下）DNA 配列 CDR 1 : 太字 ; CDR 2 : 下線 ; CDR 3 : 鋼体。  
可變領域鎖（上-下）DNA 配列 CDR 1 : 太字 ; CDR 2 : 下線 ; CDR 3 : 鋼体。  
可變領域鎖（上-下）完全呈DNA配列  
 GCTGTCGACCTGGAACTCCATCTCCCTGCTGATCTGAGAGAAGTGACCAATTGCGAGCCACTAAATGCGAGGCCAGTCAG  
 TTTATCATACCTTACCTGGCTCCGTCTGCTGATCTGAGAGAAGTGACCAATTGCGAGCCACTAAATGCGAGGCCAGTCAG  
 ACTCTGCGATCCTGGGGCCATCTGGGCTGATCTGAGAGAAGTGACCAATTGCGAGCCACTAAATGCGAGGCCAGTCAG  
 CAAAGTGGAAATCAAACCT (配列番号 : 191)

【図 7 - 1】

b7

7. 横鎖(キメラ) 完全長 $\times$ 幅×高

可変領域鎖（キメラ）、ランバク質配列





【図10-2】

### Ab10重鎮(E12) 完全長DNA配列

Ab11重鎖(キメラ)完全長DNA配列

[ 1 ] 軽道（吉メニ） 宮長タニハク質配列

b 1.1 可変領域鎖（主メラ、ランク質配列）  
VLTQITQASPVSPASGVTSVTRTQSQVYNNLAWVQPKQLYSTSTLASGVSSRFKGSCTQFTLTISDVQCD  
ATYACGCLPSDNCSAQNDCFVGGEVYVVR  
参考番号：101

### 【図 1.1 - 1】

A b 1.1 重鎖（シメラ）完全ランバク質配列

QSGESFGSRVYPTGGSLTCTGCTGIVDVTNYMOWWVRQAPGKLEWIGVGNNGRKYASWAKGRFTISSTTVDLKMT  
SUTEDTATCAYPACGADWQGTTCTGCTGIVDVTNYMOWWVRQAPGKLEWIGVGNNGRKYASWAKGRFTISSTTVDLKMT  
VYQSGSYSSSVTPPESSGTGTYCIVNQEVHEVKPTVDRVERPKSCPSKTHCPAPLVEFLPKPKDPLMSRT  
PFWTCVLTIDSHLSEPEENAKTPTKPEOASTYVAVSLVTLHODWLNGEYCKSKVPPAELIPI  
SKSACKGQPRPFPYTLPSSEENAKTQNQLSTCLYKGEXPRDAIWEWSNGQPNENYKTPVPLDSGSFLYSKLTYDKSRWQ  
QRGVTSFCSVMHMLAHINHQSSLSPK (位序番号：104)

A b 1.1 可変領域重鎖（シメラ）ランバク質配列

QSGESFGSRVYPTGGSLTCTGCTGIVDVTNYMOWWVRQAPGKLEWIGVGNNGRKYASWAKGRFTISSTTVDLKMT  
SUTEDTATCAYPACGADWQGTTCTGCTGIVDVTNYMOWWVRQAPGKLEWIGVGNNGRKYASWAKGRFTISSTTVDLKMT  
(配列番号：103)

### 【図11-2】

(b) b) 1 例題 (キメラ) 完全長シナプス配列  
QKPGGPKQKLYSTLASGSNSPKGSQSTQFLTISDVQCD  
TINCRASQSYVNTNLANYQKPGGPKQKLYSTLASGSNSPKGSQSTQFLTISDVQCD  
WVKKRIVATSSVCLNNFPREAKQWKVDNALQSRS  
YTCGDSNGDQFVPGGKEVYCHIQGLSPVSFKNRGE (配列番号: 102)

b 1.1 可変領域鎖（主メラ、ランク質配列）  
VLTQITQASPVSPASVGTIVLRSRQSVPYNNLAVWVQPKQLYISTSLASGVSSRFKGSGSQTFLTISDVQCD

Ad II

CAAGTGTGACCACTCGCTCCCTGGCTTCATGTTGAACTGAGAAGCTTGACCATGAA  
 ATTTGTTCAATTAACAACTCCATTAGGCTTAACTGGGAAACTTCAAGAACTGTTACATCA  
 CACTCTGGCTTGGGGCTTCACTGGGAACTTCACTGGGAAACTTCAAGAACTGTTACATCA  
 CAGCTGGGAAATCAAGCTGGGAACTTCACTGGGAAACTTCAAGAACTGTTACATCA  
 AACCAAGTGGAAATCAAGCTGGGAACTTCACTGGGAAACTTCAAGAACTGTTACATCA  
 GGAATCTGGGAAATCAAGCTGGGAACTTCACTGGGAAACTTCAAGAACTGTTACATCA  
 TCCATGGGAAATCAAGCTGGGAACTTCACTGGGAAACTTCAAGAACTGTTACATCA  
 TCAATGGGAAATCAAGCTGGGAAACTTCACTGGGAAACTTCAAGAACTGTTACATCA  
 CGTGGAAATCAAGCTGGGAAACTTCACTGGGAAACTTCAAGAACTGTTACATCA  
 CGAAGCTGGGAAATCAAGCTGGGAAACTTCACTGGGAAACTTCAAGAACTGTTACATCA

【図 1-1-3】

<p><u>A b 1.2 酵質(ヒト化) 完全長タブレット</u></p> <p>QVLTQPSLSAHSVGRDTINCRASQSYNNLYAWYQQKPGKPVKOLYSTSTLAVGIPSRSQSQTDFLTTSIQLPDEV ATYYCLGSDYNSDNCFVEGGTKEIKRTAAYPVFIPPSDQLSGTAVSVCLUNNYPREAKYQWKVDNALQGSNSQ ESVTEQDKSOSTYSSSTLTKSADYKEHRYVACEVTHQGLSSPYTVSFNGEC (配列番号 : 112)</p>
<p><u>A b 1.3 亜種或種差(ヒト化) タンパク質配列</u></p> <p>QVLTQPSLSAHSVGRDTINCRASQSYNNLYAWYQQKPGKPVKOLYSTSTLAVGIPSRSQSQTDFLTTSIQLPDEV ATYYCLGSDYNSDNCFVEGGTKEIKRTAAYPVFIPPSDQLSGTAVSVCLUNNYPREAKYQWKVDNALQGSNSQ ESVTEQDKSOSTYSSSTLTKSADYKEHRYVACEVTHQGLSSPYTVSFNGEC (配列番号 : 111)</p>

【図】 1 2 - 3

b. 1 可変鎖野鶴 (ヒト化) ダンバク質列。CDR 1 : 太字 ; CDR 2 : 下線 ; CDR 3 : 斜体。  
 b. 1 可変鎖野鶴 (ヒト化) DNA 領列。CDR 1 : 太字 ; CDR 2 : 下線 ; CDR 3 : 斜体。

VLITQPSLSEASVGDYTRINCRASOSYYNNLYAWVQDGPVKPQLNYSITLAVGVPSPRSGSQTDFTLTISLQPED  
 ATYCGLGSDFDCM/GAC/GC/FGGGTKVLRK (配列番号 : 115, 116, 117 のそれ)

a. 1 可変鎖野鶴 (ヒト化) DNA 領列。CDR 1 : 太字 ; CDR 2 : 下線 ; CDR 3 : 斜体。  
 a. 1 可変鎖野鶴 (ヒト化) 蛋白質列。CDR 1 : 大字 ; CDR 2 : 下線 ; CDR 3 : 斜体。  
 a. 1 可変鎖野鶴 (ヒト化) 遺伝子 (ヒト化) (配列番号 : 251)

Ab12

IOS 11 KÜNDIGUNGSKÄRTE

b1.2 可変鎖膜鎖 (ト化) DNA 酶列 CDR1 : 太字 ; CDR2 : 下線 ; CDR3 : 線削。  
VITOTSSPLSASVGDRVTINCRASOSVYNNLVAYQPERGQVQLISVILASVYPSRFKPSQSIITIILSSSLQL  
ATTCYCGESDTSNGACGFCPPGGTKVEIKR ( 配列番号 : 115, 116, 117 のそれ )

卷之三

6-12 短链(乙下) 元素DNA序列  
AAGTCGTTACCAACTACCTGGATCATCGAGAACAGGAAAGTCCTAGAGAATTCAGGATCTTGTAGAGACAGTCCATTGCGGAGCTCAG

図 1-3  
 □ 1 1 -  
 A b 1. 可変領域配列 (キメラ) ダンク配列。CDR1: 大字; CDR2: 下線; CDR3: 斜体。  
 QVLTQITASPVAAVSYTINCRASQSYVNNYLVQYQPGPKQLYSTLTLASGYSSRFKGSSTQFTLTISDVQCD  
 DATAVYCLGSDTCSGDCEPFGGGTEVVKR (能尾番号: 105, 106, 107のそれぞれ)。

△ b 1. 可変領域配鎖 (キメラ) DNA配列。CDR1: 大字; CDR2: 下線; CDR3: 斜体。  
 CAGGTGTGACCCAGACTGGCATGCCCTGCTTCAGGTGGAGAGAAGTGTGACCATATAATGGCGGCCAACTCAG  
 ATGCTTTATATAACAACCTTACCGCTGTATCAAGCAGAACGGCAGGAACTGCAAGAACATCTTACATCTTC  
 ATTCACCTTGACCATGGGGTCATGGGGTCAAGCAGAACGGCAGGAACTGCAAGAACATCTTACATCTTC  
 GTGACCATGGACCATGACTGCACTTACATCTGGCCACTTACATCTGGCACTTACATCTGGCACTTACATCTGGCA

【図12-1】  
**Ab12**  
 A b1.2重鎖(ヒト化) 完全タンパク質配列  
 EVQLVESGGIIVQPGSRLSCA VSGIDVINYMQWVRQAPGKGLEWVGIVGNGKRYA SWAKGRFTISDRNSKTVYL  
 QMNSRSLADTA YVQFQGDWGGTLYVSSATKGSVPFLAPS KTSKTSCTA LALLC VKDPEPNTWSNGAL TCSV  
 HTPAVYTLQSQQVSDVDEPYKWWYDVEVNIAKTRPSVQASVTRVSVLTHPCCPA ELLGGSPVLPKPDKTL  
 MISRKTSKAGKQGPQRPQYVTLTMKQVPSVQKTPYBPSDIAVEWSNGOPENNYYTT PVPVLDOSOSSLF YSKLTVD  
 KSRWQGQNVPFSVMEAHLYNTOKSLSFGK (黒枠番号 : 114)

Ab1.2 可変領域重鎖(ヒト化) タンパク質配列

【図 1-3-1】

Ab13

Ab 1.3 可変鏡野鏡 (キメラ) タンパク質配列。CDR1: 太字; CDR2: 下線; CDR3: 斜体。

Ab 1. 3 可變鏈範例 (牛 $\alpha$ ) DNA配列。CDR 1 : 太字；CDR 2 : 下線；CDR 3 : 粗體。  
GGGCGCCATCCTGTATGACCCGAGACTCATTCAACTCTTCAAGTCAGTGAGTCAGTGTGAGTGTGTCATAAAGT  
**GGAGAGCTTTATATACACCCCTTGCCCTGTTAGAAACAGGGACCGACCTTGCGCTGCTGCGCTGACATCTACCA**  
CTTCAACTCTGGGTCAGTGTGAGTGTGAGTGTGTCATAACTCTGAGTGTGAGTGTGTCATAACTCTGGGAGG  
GGGGACCCGAGGTGTGTGTCAAAGT (配列番号：261)

Ab 1. 3 鹽鍍 (牛 $\alpha$ ) 完全DNA配列

GGGCATCTGGTATGCCAGACTCATTCAACTCTTCAAGTCAGTGAGTCAGTGTGAGTGTGTCATAAAGT  
**GGAGAGCTTTATATACACCCCTTGCCCTGTTAGAAACAGGGACCGACCTTGCGCTGCTGCGCTGACATCTACCA**  
CTTCAACTCTGGGTCAGTGTGAGTGTGAGTGTGTCATAACTCTGAGTGTGAGTGTGTCATAACTCTGGGAGG  
GGGGACCCGAGGTGTGTGTCAAAGT (配列番号：262)

### Ab13 軽鎖(キメラ) 完全長DNA配列

**Ab1.3 重鎖（キメラ）完全長タンパク質配列**

QSVESSGGLVQPEGSLLTICASGFDNSRNMWWVROAPKGLEWIGCYNDGSTYYASWNGRFSSKTSSTTVTLQ  
NLTIVADATYCARDI/DLWAGPTLTVYS (配列番号 : 123)

**Ab 1.3 可変領域重鎖（キメラ）タンパク質配列**

QSVESSGGLVQPEGSLLTICASGFDNSRNMWWVROAPKGLEWIGCYNDGSTYYASWNGRFSSKTSSTTVTLQ  
NLTIVADATYCARDI/DLWAGPTLTVYS (配列番号 : 128, 129, 130, ⑦-アセチル)

**Ab 1.3 可変領域重鎖（キメラ）DNA配列**

QSVESSGGLVQPEGSLLTICASGFDNSRNMWWVROAPKGLEWIGCYNDGSTYYASWNGRFSSKTSSTTVTLQ  
NLTIVADATYCARDI/DLWAGPTLTVYS (配列番号 : 263)

【図 1.3 - 2】

### Ab13重鎖(牛メラ)完全長DN A配列

**A b 1 4 重鎖 (ヒト化) 完全長タンパク質配列**  
EQYLVSEGGLVQVGGSRLRSCASGIGLSSTSYMMQVWVROAQKGLEWWGVGSQDGKTYVATWAKGERTSDNSKTIVML  
OMNSRAEDTAFYVCFDGIQGTLVSSASTKGPFLAPSSKCDTAAALGQLVADTFEPPTIWSNGALTSPV  
TPAVSOLVWVTTSSVTTVPSLSSLTQYICVNVNPKNTVKDARVERKSCTDHCPACPFELLGFSPFLPPPEPDITLM  
ISRPTEVTCVWDYSHEDPVEPSPREMKVYDGEVNAHNTYKQGKPSDQASTYRVSLVILVHQDWLNGKEVCKVSKNKAIAFH  
EKUTSKAGPPOREVYPTLPSKREKQVYDGEVNAHNTYKQGKPSDQASTYRVSLVILVHQDWLNGKEVCKVSKNKAIAFH  
RWQGNFVFSYMCMEAHNTYKQGKPSDQASTYRVSLVILVHQDWLNGKEVCKVSKNKAIAFH  
**A b 1 4 可変領域重鎖 (ヒト化) タンパク質配列**  
EQYLVSEGGLVQVGGSRLRSCASGIGLSSTSYMMQVWVROAQKGLEWWGVGSQDGKTYVATWAKGERTSDNSKTIVML  
OMNSRAEDTAFYVCFDGIQGTLVSSASTKGPFLAPSSKCDTAAALGQLVADTFEPPTIWSNGALTSPV  
TPAVSOLVWVTTSSVTTVPSLSSLTQYICVNVNPKNTVKDARVERKSCTDHCPACPFELLGFSPFLPPPEPDITLM  
ISRPTEVTCVWDYSHEDPVEPSPREMKVYDGEVNAHNTYKQGKPSDQASTYRVSLVILVHQDWLNGKEVCKVSKNKAIAFH  
EKUTSKAGPPOREVYPTLPSKREKQVYDGEVNAHNTYKQGKPSDQASTYRVSLVILVHQDWLNGKEVCKVSKNKAIAFH  
RWQGNFVFSYMCMEAHNTYKQGKPSDQASTYRVSLVILVHQDWLNGKEVCKVSKNKAIAFH

ah14

Ab13 軽鎖（キメラ）完全長タンパク質配列

QMNNSLRAEDTAVYFCITRGD/WGGCGTLVIVSS (NCBI番号 : 138, 139, 140, ムツキツツギ)

A.D.3 可変側輪軸 (主文) ダッシュ質能

1

Ab 1.3 可変領域整鎖(キメラ)タンパク質配列。CDR1: 太字; CDR2: 下線; CDR3: 斜体。

### Ab13 軽鎖(キメラ) 完全長DNA配列

**Ab1.3 重鎖（キメラ）完全長タンパク質配列**

QSVESSGGLVQPEGSLLTICASGFDNSRNMWWVROAPKGLEWIGCYNDGSTYYASWNGRFSSKTSSTTVTLQ  
NLTIVADATYCARDI/DLWAGPTLTVYS (配列番号 : 123)

**Ab 1.3 可変領域重鎖（キメラ）タンパク質配列**

QSVESSGGLVQPEGSLLTICASGFDNSRNMWWVROAPKGLEWIGCYNDGSTYYASWNGRFSSKTSSTTVTLQ  
NLTIVADATYCARDI/DLWAGPTLTVYS (配列番号 : 128, 129, 130, ⑦-アセチル)

**Ab 1.3 可変領域重鎖（キメラ）DNA配列**

QSVESSGGLVQPEGSLLTICASGFDNSRNMWWVROAPKGLEWIGCYNDGSTYYASWNGRFSSKTSSTTVTLQ  
NLTIVADATYCARDI/DLWAGPTLTVYS (配列番号 : 263)

1

Ab 1.3 可変領域整鎖(キメラ)タンパク質配列。CDR1: 太字; CDR2: 下線; CDR3: 斜体。

【図 13-2】

**A b 1 . 4 重鎖 (ヒト化) 完全長タンパク質配列**

[ 図 1 4 - 1 ]

ATWAKGERTISDNSKTIVM  
EYQVYERGGGVQVGGSRLRSCASGIGLSSTSYMMQVNOVRAFGKLEWWGIGSDOKTYV  
OMNSRAEDTAFYVCFDGIQGTLVSSASTKGFLPAPSKRSVYD  
TPIAVOLSYVTTSSVTTVPSSSLGTYCIVCNVHNPKNTV  
ISRPTEVTCVVDYSHEDPEVKREMYTLPSPKREYQV  
EKUTSKAGPPOREVYTPPSKREYQV  
RWQGNFVCSYMICAEHNHYTKSLSFGK (斜体番号: 134)

**A b 1 . 4 可変領域重鎖 (ヒト化) タンパク質配列**

ah14

**A b 1 4 重鎖 (ヒト化) 完全長タンパク質配列**  
EQYLVSEGGLVQVGGSRLRSCASGIGLSSTSYMMQVWVROAQKGLEWWGVGSQDGKTYVATWAKGERTSDNSKTIVML  
OMNSRAEDTAFYVCFDGIQGTLVSSASTKGPFLAPSSKCDTAAALGQLVADTFEPPTIWSNGALTQV  
TPAVLSSVTTPSVSSLTQVYCNVANPKNTVKDARVERKSCTDHCPACPAELLGFSPVFFPPEPDITM  
ISRPTEVTCVVDYSHEDPVEPSPREMKNTVPPSSSLGTVQVHNLNGKEYKCKVANSKAIAFH  
EKUTSKAGPPOREPVYUPLPSKQFQVYDGEVNAHNTKLGKTPBQDASTYVRSVSLVTHQDWLNGKE  
RWQGNVFSYCMVIEAHNTYTKSLSFGK (斜体番号: 134)

QMNNSLRAEDTAVYFCITRGD/WGGCGTLVIVSS (NCBI番号 : 138, 139, 140, ムツキツツギ)

QMNNSLRAEDTAVYFCITRGD/WGGCGTLVIVSS (NCBI番号 : 138, 139, 140, ムツキツツギ)

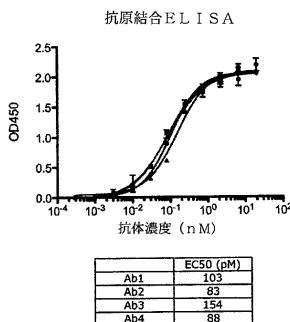
A.D.3 可変側輪軸 (主文) ダッシュ質能

ATTCATAACGAGAATGAGAACGATGAGGAACTGGATTTTGTACCAAUUACAC  
CCTCGTACCCGCTTGAGC  
序列编号: 273)

【 図 1 4 - 2 】

(図 15)

## ヒトCGRP $\alpha$ ELISA



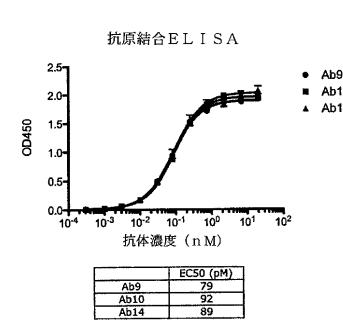
【図 1 6】

ヒトCGRP $\alpha$ ELISA

【 図 1 4 - 3 】

【图 17】

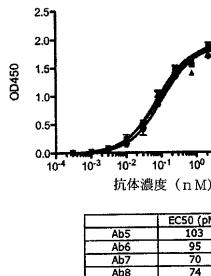
## ヒトCGRP $\alpha$ ELISA



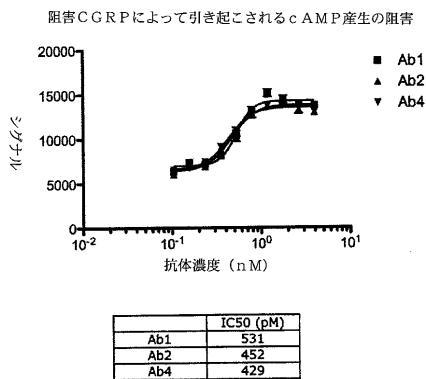
【 図 1 8 】

## ヒトCGRP $\alpha$ ELISA

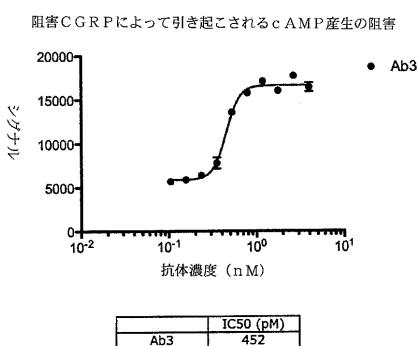
抗原結合ELISA



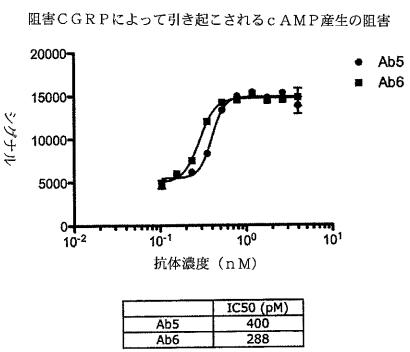
【図19】

ヒトCGRP $\alpha$  cAMP

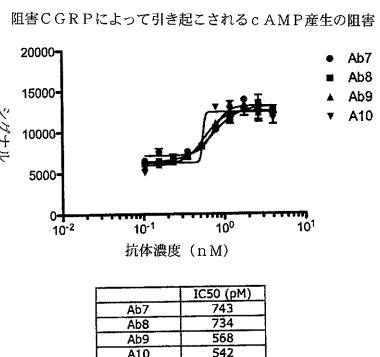
【図20】

ヒトCGRP $\alpha$  cAMP

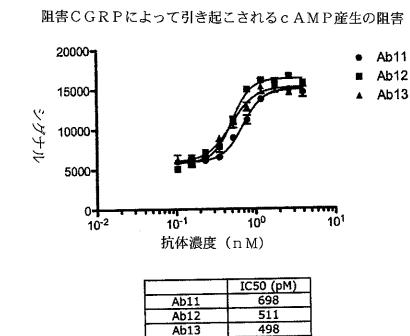
【図21】

ヒトCGRP $\alpha$  cAMP

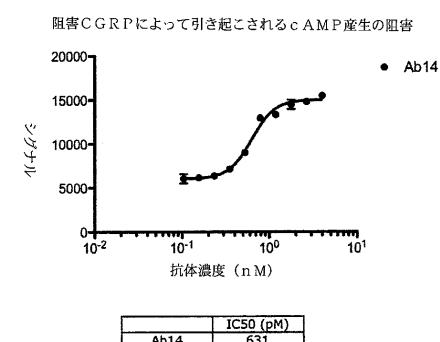
【図22】

ヒトCGRP $\alpha$  cAMP

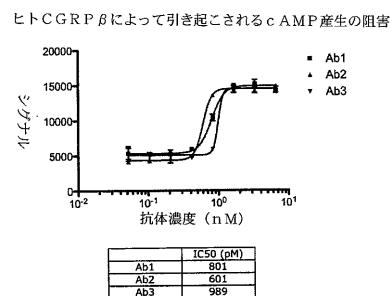
【図23】

ヒトCGRP $\alpha$  cAMP

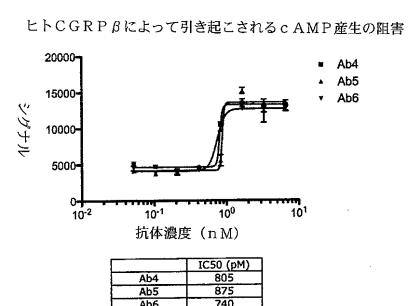
【図24】

ヒトCGRP $\alpha$  cAMP

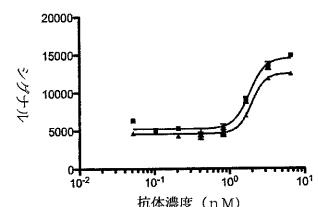
【図25】

ヒトCGRP $\beta$  cAMP

【図26】

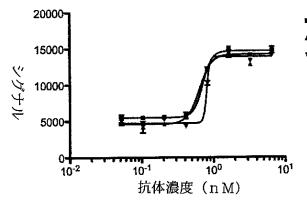
ヒトCGRP $\beta$  cAMP

【図27】

ヒトCGRP $\beta$  cAMPヒトCGRP $\beta$ 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】

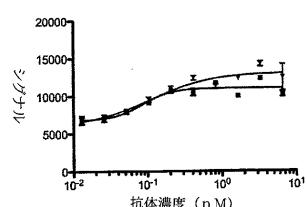
ヒトCGRP $\beta$  cAMPヒトCGRP $\beta$ によって引き起こされるcAMP産生の阻害

	IC50 (pM)
Ab9	716
Ab10	641
Ab14	812

【図31】

ラットCGRP cAMP

r t CGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害

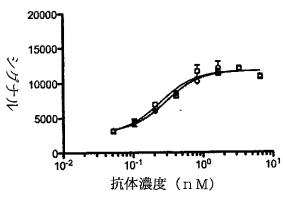


	IC50 (pM)
Ab3	85
Ab6	111

【図32】

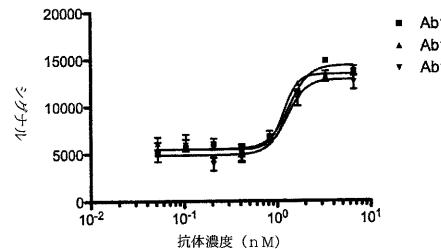
ラットCGRP cAMP

r t 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】

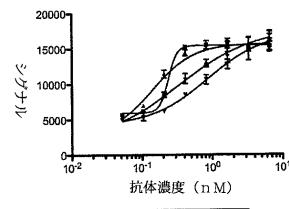
ヒトCGRP $\beta$  cAMPヒトCGRP $\beta$ によって引き起こされるcAMP産生の阻害

	IC50 (pM)
Ab11	1344
Ab12	1181
Ab13	1276

【図30】

ラットCGRP cAMP

r t CGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害

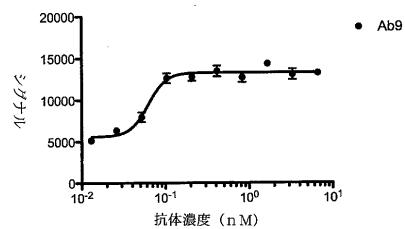


	IC50 (pM)
Ab1	239
Ab2	142
Ab4	868
Ab5	334

【図33】

ラットCGRP cAMP

r t CGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害

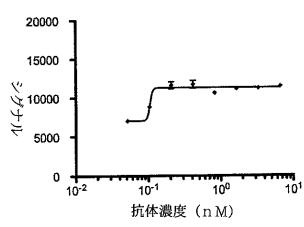


	IC50 (pM)
Ab9	62

【図34】

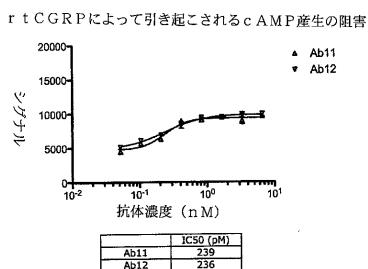
ラットCGRP cAMP

r t CGRPによって引き起こされるcAMP産生の阻害

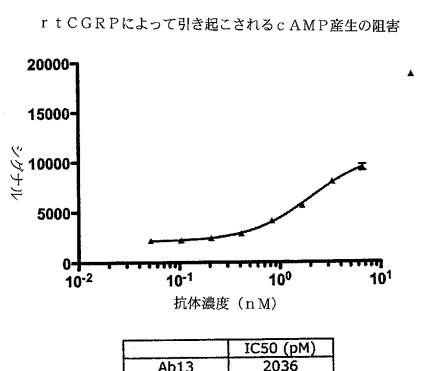


	IC50 (pM)
Ab10	105

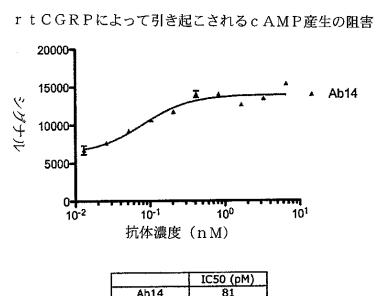
【図35】  
ラットCGRP cAMP



【図36】  
ラットCGRP cAMP



【図37】  
ラットCGRP cAMP

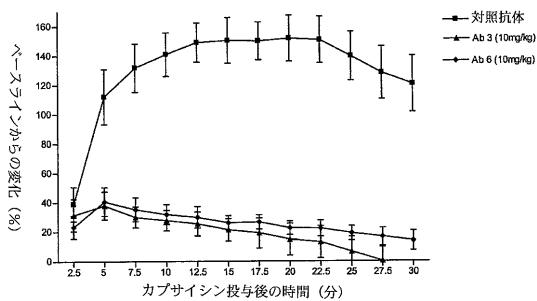


【図38】  
放射性リガンド結合の阻害

	IC <sub>50</sub> (nM)	K <sub>i</sub> (nM)
<b>Ab1</b>	0.585	0.46
<b>Ab2</b>	0.482	0.378
<b>Ab3</b>	2.49	10.96
<b>Ab4</b>	0.579	0.455
<b>Ab5</b>	0.586	0.461
<b>Ab6</b>	2.46	1.94
<b>Ab7</b>	4.53	3.56
<b>Ab8</b>	0.936	0.736
<b>Ab9</b>	2.03	1.6
<b>Ab10</b>	0.28	0.22
<b>Ab11</b>	2.26	1.78
<b>Ab12</b>	0.315	0.248
<b>Ab13</b>	0.335	0.264

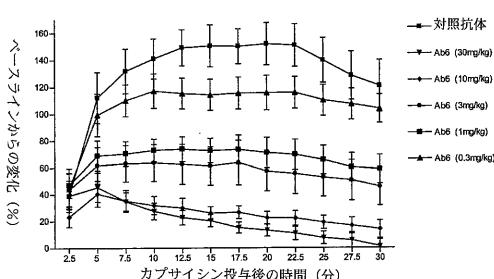
【図39】

カプサイシン投与後の血管拡張の減少

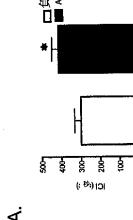
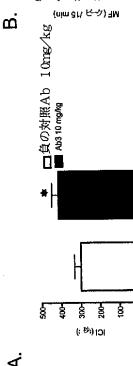
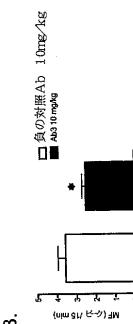


【図40】

カプサイシン投与後の血管拡張の減少

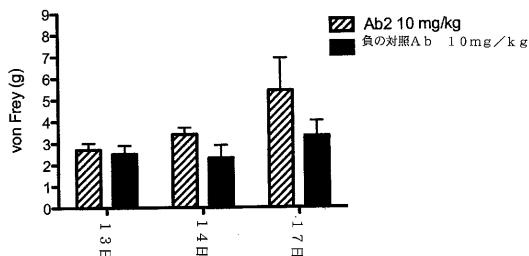


【図41】

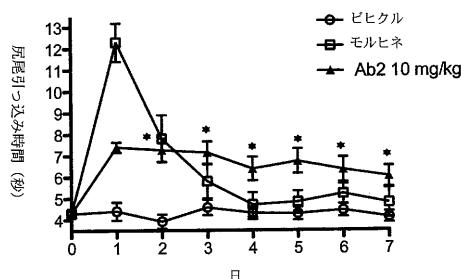


\* p < 0.05 独立スチューデントt試験、負の对照Abと比較

【図42】

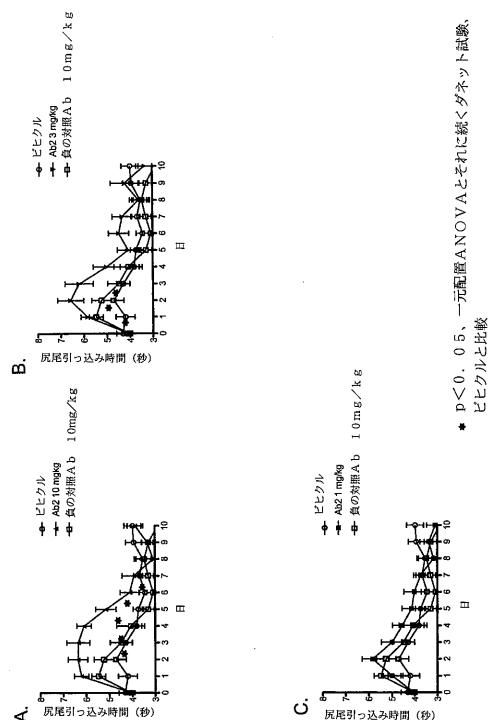


【図43】



\* 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

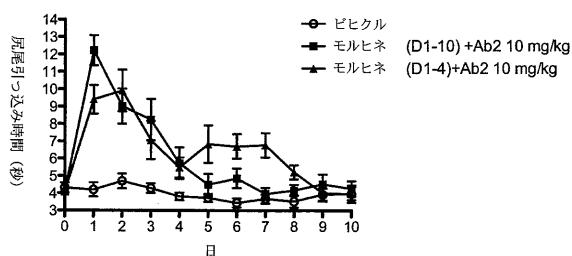
【図44】



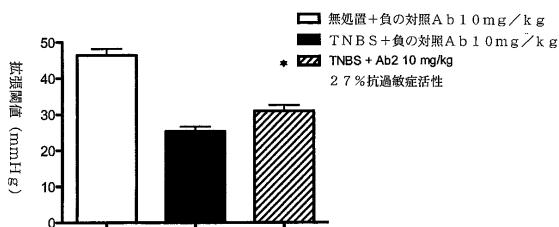
\* p < 0.05、一元配置ANOVAと比較

\* ビヒクルと比較

【図45】



【図46】



\* p < 0.05スチュードント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, スノーホーミッシュ, トゥーハンドレッドアンドサーティ  
ーサード・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・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 31  
24エイ

(72)発明者 ピルグレン, 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 24  
09

(72)発明者 ミッチャエル, 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・プレイス 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 - クリストイーナ  
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  
・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)

(151)

JP 6282584 B2 2018.2.21

BIOSIS/MEDLINE/CAplus/REGISTRY(STN)