República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112021006784-1 A2

(22) Data do Depósito: 10/10/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 21/09/2021

(54) Título: CONSTRUTOS DE ANTICORPO QUE SE LIGAM A 4-1BB E ANTÍGENOS ASSOCIADOS A TUMOR E USOS DOS MESMOS

(51) Int. Cl.: C07K 16/28; A61K 39/395; A61K 47/68; A61P 35/00; C07K 16/30; (...).

(30) Prioridade Unionista: 10/10/2018 US 62/744,059.

(71) Depositante(es): ZYMEWORKS INC..

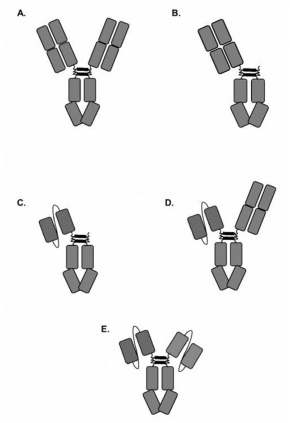
(72) Inventor(es): DANIEL T. PATTON; DAVID M. MILLS; THOMAS SPRETER VON KREUDENSTEIN; GESA VOLKERS; DUNJA UROSEV; LEE FREIBURGER; ZHUANG DUAN; ELIZABETH HALVORSEN; HARSH PRATAP; BRANDON CLAVETTE; ANNA VON ROSSUM; DUNCAN BROWMAN; PETER WING YIU CHAN; DANNY CHUI; ROBERT WILLIAM GENE; SUKHBIR SINGH KANG; SYLWIA JANCOWSKI; PATRICIA ZWIERZCHOWSKI.

(86) Pedido PCT: PCT CA2019051448 de 10/10/2019

(87) Publicação PCT: WO 2020/073131 de 16/04/2020

(85) Data da Fase Nacional: 08/04/2021

(57) Resumo: CONSTRUTOS DE ANTICORPOS QUE SE LIGAM ESPECIFICAMENTE A 4-1BB OU FRa, MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E USOS DOS MESMOS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS, ÁCIDOS NUCLEICOS E VETORES. São descritos aqui construtos de anticorpo compreendendo um domínio de ligação 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno que se liga a um antígeno associado a tumor (TAA), em que o domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime. O andaime pode ser um construto Fc com modificações que reduzem sua capacidade de mediar a função efetora.



CONSTRUTOS DE ANTICORPOS QUE SE LIGAM ESPECIFICAMENTE A 4-1BB OU FRα, MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E USOS DOS MESMOS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS, ÁCIDOS NUCLEICOS E VETORES

FUNDAMENTOS

[001] 4-1BB é um membro da superfamília de receptores de TNF que é expresso em vários tipos de células imunes, incluindo, mas não se limitando a, células T ativadas, células NK e NKT, células T regulatórias, células dendríticas, células B e mastócitos estimulados. As células T em repouso não expressam níveis elevados de 4-1BB; é suprarregulado após a ativação por meio do receptor de células T (TCR). Também conhecido como CD137 ou TNFRSF9, 4-1BB é expresso também em células não imunes, incluindo populações de células neurais encontradas no cérebro (Bartkowiak and Curran (2015), Front. Oncol. 5:117). 4-1BB é um receptor transmembranar que é ativado pela ligação ao seu ligando (4-1BBL ou CD137L), que é expresso em células como macrófagos e células B ativadas. Uma vez ativado, 4-1BB funciona para promover a divisão e sobrevida das células T, intensificar a função efetora das células T ativadas e gerar memória imunológica.

[002] Dado o seu papel fundamental na modulação da função das células T, os agonistas 4-1BB e 4-1BB em particular tornaram-se um alvo atraente para o desenvolvimento de imunoterapias contra o câncer. Na verdade, uma série de ensaios clínicos examinaram a eficácia de diferentes terapias de direcionamento de 4-1BB, incluindo anticorpos anti-4-1BB sozinhos ou em combinação com anticorpos de direcionamento de tumor, inibidores de ponto de verificação ou quimioterapia. A maioria desses ensaios clínicos foi realizada com o anticorpo anti-4-1BB urelumabe. Desenvolvido pela Bristol-Myers Squibb, o urelumabe é um anticorpo IgG4 humano atualmente em uma série de ensaios clínicos de Fase 1 e Fase 2 projetados para examinar a eficácia no tratamento de câncer. No entanto, a administração de urelumabe é limitada a doses de 0,1 mg / kg, pois doses mais altas resultaram em toxicidade hepática grave (Segal et al, Clin Cancer Res. 2017 Apr 15;23(8):1929-1936).

[003] O utomilumabe, desenvolvido pela Pfizer, é um anticorpo IgG2 humano que está atualmente em vários ensaios clínicos de Fase 1, Fase 2 e Fase 3, também projetado para avaliar a eficácia no tratamento de câncer. Embora o utomilumabe não pareça induzir toxicidades limitativas da dose, os primeiros dados clínicos indicaram que a sua eficácia como monoterapia não parecia ser significativa (Makkouk, *et al.* (2016) European Journal of Cancer 54:112-119).

[004] Esta informação de base é fornecida com o propósito de tornar conhecidas as informações que o requerente acredita serem de possível relevância para a presente divulgação. Nenhuma admissão é necessariamente pretendida, nem deve ser interpretada, que qualquer uma das informações anteriores constitui estado da técnica contra a invenção reivindicada.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[005] São descritos aqui construtos de anticorpos biespecíficos que se ligam a 4-1BB e antígenos associados a tumor e usos dos mesmos. Um aspecto da presente divulgação se refere a um construto de anticorpo que compreende: a) um primeiro domínio de ligação 4-1BB que se liga a um domínio extracelular 4-1BB (4-1BB ECD), e b) um antígeno associado a tumor (TAA) domínio de ligação ao antígeno (domínio de ligação ao antígeno TAA) que se liga a um TAA, em que o primeiro domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime.

[006] Outro aspecto da presente divulgação se refere a um construto de anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga especificamente a 4-1BB, compreendendo: uma sequência variável da cadeia pesada compreendendo três CDRs e a sequência variável da cadeia leve compreendendo três CDRs e a sequência variável da cadeia pesada e a sequência variável da cadeia leve é de qualquer uma das variantes v28726, v28727, v28728, v28730, v20022, v28700, v28704, v28705, v28706, v28711, v28712, v28713, v20036, v28696, v28697, v28698, v28701, v28702, v28703, v28707, v20023, v28683, v28684, v28685, v28686, v28687, v28688, v28689, v28690, v28691, v28692, v28694 ou v28695.

[007] Outro aspecto da presente divulgação se refere à composição farmacêutica que compreende os construtos de anticorpo aqui descritos.

[008] Outro aspecto da presente divulgação se refere a um ou mais ácidos nucleicos que codificam os construtos de anticorpo aqui descritos.

[009] Outro aspecto da presente divulgação se refere a um ou mais vetores que compreendem um ou mais ácidos nucleicos que codificam os construtos de anticorpo aqui descritos.

[0010] Outro aspecto da presente divulgação se refere a uma célula isolada compreendendo um ou mais ácidos nucleicos que codificam os construtos de anticorpos descritos neste documento, ou um ou mais vetores compreendendo um ou mais ácidos

nucleicos.

[0011] Outro aspecto da presente divulgação se refere a um método de preparação dos construtos de anticorpo aqui descritos, compreendendo a cultura das células isoladas aqui descritas sob condições adequadas para expressar o construto de anticorpo e purificação do construto de anticorpo.

[0012] Outro aspecto da presente divulgação se refere ao método de tratamento de um sujeito com câncer, compreendendo administrar ao sujeito uma quantidade eficaz dos construtos de anticorpo aqui descritos.

[0013] Outro aspecto da presente divulgação se refere ao uso de uma quantidade eficaz do construto de anticorpo aqui descrito para o tratamento de câncer em um sujeito em necessidade do mesmo.

[0014] Outro aspecto da presente divulgação se refere ao uso dos construtos de anticorpos aqui descritos na preparação de um medicamento para o tratamento do câncer.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[0015] Estas e outras características da invenção reivindicada se tornarão mais evidentes na seguinte descrição detalhada, na qual é feita referência aos desenhos anexos.

[0016] A Figura 1 representa formatos de anticorpo exemplificativos. A Figura 1A fornece uma representação de um formato de anticorpo de ocorrência natural (formato FSA); a Figura 1B fornece uma representação de um formato de anticorpo de um braço (OAA), onde o domínio de ligação ao antígeno está no formato Fab; a Figura 1C fornece uma representação de um formato de anticorpo de um braço (OAA), onde o domínio de ligação ao antígeno está no formato scFv; a Figura 1D fornece uma representação de um formato de anticorpo bivalente onde um domínio de ligação ao antígeno está no formato scFv e o outro está em um formato Fab (também referido como formato híbrido); e a Figura 1E fornece uma representação de um formato de anticorpo bivalente em que ambos os domínios de ligação ao antígeno estão no formato scFv (também referido como formato scFv duplo). Na Figura 1, a porção Fc dos anticorpos exemplificativos são identificados em branco, enquanto os domínios de ligação ao antígeno são identificados em cinza.

[0017] A Figura 2 representa uma série de formatos exemplificativos adicionais contemplados para os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA aqui descritos. A Figura 2A fornece um exemplo de um formato 1 x 1, onde o construto de anticorpo compreende um domínio de ligação 4-1BB (representado aqui como ligante 4-1BB) e um domínio de ligação

ao antígeno TAA (representado aqui no formato Fab). A Figura 2B fornece um exemplo de um formato 2 x 1, onde o construto de anticorpo compreende dois domínios de ligação ao antígeno 4-1BB (ambos representados aqui no formato Fab) e um domínio de ligação ao antígeno TAA (representado aqui no formato scFv). A Figura 2C fornece um exemplo de um formato 2 x 2, onde o construto de anticorpo compreende dois domínios de ligação ao antígeno 4-1BB (ambos representados aqui no formato Fab) e dois domínios de ligação ao antígeno TAA (ambos representados aqui no formato scFv). A Figura 2D fornece outro exemplo de um formato 1 x 1, onde o construto de anticorpo compreende um domínio de ligação 4-1BB (representado aqui no formato Fab) e um domínio de ligação ao antígeno TAA (representado aqui no formato scFv). A Figura 2E fornece outro exemplo de um formato 2 x 1, onde o construto de anticorpo compreende dois domínios de ligação ao antígeno 4-1BB (ambos representados aqui no formato Fab) e um domínio de ligação ao antígeno TAA (representado aqui no formato scFv), ligado a um dos domínios de ligação ao antígeno 4-1BB. A Figura 2F fornece outro exemplo de um formato 1 x 1, onde o construto de anticorpo compreende um domínio de ligação 4-1BB (representado aqui no formato Fab) e um domínio de ligação ao antígeno TAA (representado aqui no formato scFv); este tipo de construto de anticorpo também é referido como um formato híbrido. A Figura 2F fornece outro exemplo de um formato 1 x 1, onde o construto de anticorpo compreende um domínio de ligação 4-1BB (representado aqui no formato Fab) e um domínio de ligação ao antígeno TAA (representado aqui no formato scFv), ligado ao domínio de ligação ao antígeno 4-1BB. As representações na Figura 2 são apenas exemplificativas e deve ser entendido que, embora os domínios de ligação ao antígeno 4-1BB sejam representados no formato Fab aqui, eles também podem estar no formato scFv ou sdAb, ou se houver dois domínios de ligação ao antígeno 4-1BB, eles podem estar em diferentes formatos ou podem se ligar a diferentes epítopos de 4-1BB. Da mesma forma, embora os domínios de ligação ao antígeno TAA sejam representados aqui no formato scFv, eles também podem estar no formato Fab ou sdAb, ou se houver dois domínios de ligação ao antígeno TAA, eles podem estar em formatos diferentes ou podem se ligar a diferentes TAAs.

[0018] A Figura 3 representa os formatos de construtos de anticorpo 4-1BB x HER2 exemplares que foram construídos conforme descrito no Exemplo 1.

[0019] A Figura 4 mostra a capacidade de construtos de anticorpos 4-1BB x HER2 em diferentes formatos e controles para ativar 4-1BB em um experimento de cocultura

usando células repórter Jurkat 4-1BB-NFkB-Luciferase e células tumorais SKOV3 ou MDA-MB-468. É mostrada a quantidade de luminescência induzida por cada construção de anticorpo: v16675 (Figura 4A); v16679 (Figura 4B); v15534 (Figura 4C); v16601 (Figura 4D); v16605 (Figura 4E); v19353 (Figura 4F); v1040 (Figura 4G); v16992 (Figura 4H); e v12952 (Figura 4I).

[0020] A Figura 5 mostra a capacidade de construtos de anticorpo 4-1BB x HER2 em diferentes formatos e controles para ativar 4-1BB em um experimento de cocultura de células T CD4+ primárias com e sem células tumorais SKBR3. A produção de IL-2 pelas células T foi medida por ELISA.

[0021] A Figura 6 compara a capacidade do construto de anticorpo 4-1BB x HER2 v16679, o anticorpo 4-1BB v12592, o construto de anticalina 4-1BB x HER2 v19353 e o anticorpo de controle negativo v13725 para estimular a produção de IFNγ em um ensaio no qual $CD4^+$, $CD8^+$ ou células pan-T foram cocultivadas com células $HER2^+$ SKBR3.

[0022] A Figura 7 representa a capacidade dos anticorpos quiméricos 4-1BB para estimular a atividade 4-1BB em um ensaio do gene repórter 4-1BB-NF-κB quando reticulado com um anticorpo anti-Fc. As quatro colunas para cada variante correspondem (na ordem da direita para a esquerda) às concentrações do construto de anticorpo testadas: 2,5 µg / ml, 0,833 µg / ml, 0,277 µg / ml, 0,092 µg / ml.

[0023] A Figura 8 mostra os construtos usados para mapeamento de domínio de ligação de anticorpo a 4-1BB. A Figura 8A mostra os construtos 4-1BB quiméricos humano, cão e cão-humano; a Figura 8B mostra o 4-1BB humano transmembranar de comprimento total e o domínio 3 e 4 humano truncado.

[0024] A Figura 9 mostra a capacidade dos anticorpos quiméricos 4-1BB e controles para se ligarem ao 4-1BB humano e de cão. Os resultados são mostrados para v12592 na Figura 9A; para v12593 na Figura 9B; para v20022 na Figura 9C; para v20023 na Figura 9D; para v20025 na Figura 9E; para v20029 na Figura 9F; para v20032 na Figura 9G; para v20036 na Figura 9H e para v20037 na Figura 9I.

[0025] A Figura 10 representa a capacidade dos anticorpos quiméricos para se ligarem a várias proteínas 4-1BB expressas em células 293E6.

[0026] A Figura 11A mostra a capacidade de anticorpos quiméricos se ligarem a 4-1BB cynomolgus. A Figura 11B representa a capacidade desses anticorpos quiméricos para se ligarem a 4-1BB de camundongo.

[0027] A Figura 12 mostra as sequências dos CDRs de domínio variável de cadeia pesada de camundongo de A) 1C8, B) 1G1 e C) 5G8 transferidos em uma estrutura humana, bem como CDRs de domínio variável de cadeia leve de camundongo de D) 1C8, E) 1G1 e F) 5G8 transferido para uma estrutura humana. As sequências são numeradas de acordo com Kabat e os CDRs foram atribuídos com a definição AbM e são identificados por "*".

[0028] A Figura 13 representa os sensorgramas SPR de anticorpos 4-1BB humanizados representativos derivados do anticorpo 1C8 de camundongo.

[0029] A Figura 14 representa os sensorgramas SPR de anticorpos 4-1BB humanizados representativos derivados do anticorpo 1G1 de camundongo.

[0030] A Figura 15 representa os sensorgramas SPR de anticorpos 4-1BB humanizados representativos derivados do anticorpo 5G8 de camundongo.

[0031] A Figura 16A representa a capacidade dos anticorpos 4-1BB humanizados derivados de 1C8 para se ligarem às células que expressam 4-1BB, conforme medido por citometria de fluxo. A Figura 16B representa a capacidade dos anticorpos 4-1BB humanizados derivados de 1G1 para se ligarem às células que expressam 4-1BB, conforme medido por citometria de fluxo. A Figura 16C representa a capacidade dos anticorpos 4-1BB humanizados derivados de 5G8 para se ligarem às células que expressam 4-1BB, conforme medido por citometria de fluxo.

[0032] A Figura 17 representa os termogramas DSC de anticorpos humanizados derivados de 1C8.

[0033] A Figura 18 representa os termogramas DSC de anticorpos humanizados derivados de 1G1.

[0034] A Figura 19 representa os termogramas DSC de anticorpos humanizados derivados de 5G8.

[0035] A Figura 20 representa o perfil de LC-MS de um anticorpo humanizado purificado representativo derivado de 1C8.

[0036] A Figura 21A mostra a capacidade de anticorpos 4-1BB humanizados derivados de 1C8 para estimular a atividade de 4-1BB no ensaio repórter 4-1BB-NF-κB-luc. A Figura 21B mostra a capacidade de anticorpos 4-1BB humanizados derivados de 1G1 para estimular a atividade de 4-1BB no ensaio repórter 4-1BB-NF-κB-luc. A Figura 21C mostra a capacidade de anticorpos 4-1BB humanizados derivados de 5G8 para estimular a atividade de 4-1BB no ensaio repórter 4-1BB-NF-κB-luc.

[0037] A Figura 22 representa os formatos de construtos de anticorpo 4-1BB x TAA exemplificativos preparados conforme descrito no Exemplo 17.

[0038] A Figura 23A representa a capacidade dos construtos de anticorpo 4-1BB x MSLN v22329 e v22639 para estimular a atividade 4-1BB em experimentos de coculturausando células repórter 4-1BB-NF-κB-Luciferase Jurkat e células tumorais $MSLN^{high}$ H226 ou $MSLN^{low}$ A549. A Figura 23B representa a capacidade dos construtos de anticorpo 4-1BB x MSLN v22353 e v22630 para estimular a atividade de 4-1BB no mesmo ensaio.

[0039] A Figura 24 mostra a capacidade do construto de anticorpo 4-1BB x FRα v22638 para estimular a atividade de 4-1BB no ensaio de co-cultura de células repórter 4-1BB-NF-κB-Luciferase Jurkat.

[0040] A Figura 25A mostra a capacidade do construto 4-1BB x NaPi2b v22345 de intensificar aγ produção de IFNγ por células CD8 quando cocultivadas com células tumorais que expressam NaPi2b em níveis diferentes. A Figura 25B mostra a capacidade do construto 4-1BB x MSLN v22630 de intensificar a produção de IFNγ por células CD8 quando em co-cultura com várias células tumorais que expressam MSLN em níveis variáveis. A Figura 25C mostra a capacidade do construto 4-1BB x FRα v22638 de intensificar a produção de IFNγ por células T CD8 quando em cocultura com várias células tumorais que expressam FRα em níveis variáveis. A Figura 25D mostra que o anticorpo monoespecífico 4-1BB de controle v12592 é incapaz de intensificar a produção de IFNγ por células T CD8 quando em cocultura com várias células tumorais expressando níveis variáveis de TAA.

[0041] A Figura 26 mostra os formatos de construtos de anticorpo 4-1BB x FRα exemplificativos preparados conforme descrito no Exemplo 20. A orientação do scFv representada nesta Figura é apenas para ilustração; os scFvs nos construtos podem estar na orientação VH-VL ou VL-VH, conforme descrito na Tabela 11.

[0042] A Figura 27 representa a capacidade dos construtos de anticorpo 4-1BB x FRα de se ligarem a células Jurkat que expressam 4-1BB, conforme medido por citometria de fluxo. A Figura 27A mostra os dados para construtos de anticorpos tendo um parátopo 4-1BB derivado do anticorpo de camundongo 1C8; Figura 27B do anticorpo de camundongo 2E8; Figura 27C do anticorpo de camundongo 4E6; Figura 27D do anticorpo de camundongo 5G8; Figura 27E do anticorpo de camundongo 6B3 e Figura 27F do anticorpo MOR7480.1.

[0043] A Figura 28 representa a capacidade dos construtos de anticorpo 4-1BB x

FRα de se ligarem a FRα expresso em células 293E, conforme medido por citometria de fluxo. A Figura 28A representa a capacidade de v23656, v23657, v23658, v23659 e v23660 de se ligarem às células; a Figura 28B representa a capacidade de v23661, v23662, v23663, v23664 e v23665 de se ligarem às células e a Figura 28C representa a capacidade de v23651, v17721 e IgG1 de se ligarem às células.

[0044] A Figura 29A representa a capacidade de construtos de anticorpo 4-1BB x FRα tendo FRα parátopo 8K22 para estimular produção de IFNγ em um ensaio de cocultura de células T CD8+ com células $FR\alpha^{high}$ IGROV1 ou células $FR\alpha^{low}$ A549. A Figura 29B representa a capacidade de construções de anticorpo 4-1BB x FRα tendo FRα parátopo 1H06 de estimular produção de IFNγ em um ensaio de cocultura de células T CD8+. A Figura 29C representa a capacidade dos anticorpos monoespecíficos 4-1BB v20022, v20036 ou v12592 e o anticorpo FRα monoespecífico v17721 para estimular produção de IFNγ no ensaio de cocultura de células T CD8+.

[0045] A Figura 30A e a Figura 30B representam perfis UPLC-SEC e Caliper, respectivamente, da variante quimérica parental 8K22 purificada 23820, enquanto a Figura 30C e a Figura 30D representam perfis UPLC-SEC e Caliper, respectivamente, da variante 8K22 humanizada representativa purificada 23807.

[0046] A Figura 31A representa os sensorgramas BLI para o anticorpo 8K22 quimérico parental v23820 e dois anticorpos 8K22 humanizados representativos v23801 e v23807 no sobrenadante. A Figura 31B representa os sensorgramas BLI para o anticorpo 8K22 quimérico parental v23820 e os dois anticorpos 8K22 humanizados representativos v23801 e v23807 após purificação.

[0047] A Figura 32A representa os termogramas DSC de anticorpos 8K22 humanizados representativos purificados exibindo uma única transição. A Figura 32B representa os termogramas DSC de anticorpos 8K22 humanizados representativos purificados exibindo uma transição de dois estados.

[0048] A Figura 33A descreve o perfil de LC / MS do anticorpo 8K22 humanizado representativo purificado v23801. A Figura 33B representa o perfil LC / MS de anticorpo 8K22 humanizado representativo purificado v23807.

[0049] A Figura 34 representa os termogramas DSC de anticorpos com braços de ligação 8K22.

[0050] A Figura 35A representa o sensorgrama BLI para v29675; A Figura 35B

representa o sensorgrama BLI para v29677; A Figura 35C mostra o sensorgrama BLI para v29680.

[0051] A Figura 36 representa as representações dos anticorpos biespecíficos 4-1BB x FRα adicionais preparados e testados conforme descrito no Exemplo 33.

[0052] A Figura 37 representa a capacidade de vários anticorpos biespecíficos 4-1BB x FRα de estimular a produção de IFNγ em uma célula T primária: ensaio de cocultura de células tumorais com células IGROV1.

[0053] A Figura 38A representa a capacidade de anticorpos biespecíficos 4-1BB x FRα de ativar 4-1BB em um ensaio de gene repórter NFκB com células IGROV1. A Figura 38B representa a capacidade de anticorpos biespecíficos 4-1BB x FRα para ativar 4-1BB em um ensaio de gene repórter NFκB com células A431. A Figura 38C representa a capacidade de anticorpos biespecíficos 4-1BB x FRα de ativar 4-1BB em um ensaio de gene repórter NFκB com células HCC827. A Figura 38D representa a capacidade de anticorpos biespecíficos 4-1BB x FRα para ativar 4-1BB em um ensaio de gene repórter NFκB com células OVKATE. A Figura 38E representa a capacidade de anticorpos biespecíficos 4-1BB x FRα para ativar 4-1BB em um ensaio de gene repórter NFκB com células OVCAR3. A Figura 38F representa a capacidade de anticorpos biespecíficos 4-1BB x FRα para ativar 4-1BB em um ensaio de gene repórter NFκB com células H661. A Figura 38G representa a capacidade de anticorpos biespecíficos 4-1BB x FRα para ativar 4-1BB em um ensaio de gene repórter NFκB com células H441. A Figura 38H representa a capacidade de anticorpos biespecíficos 4-1BB x FRα para ativar 4-1BB em um ensaio de gene repórter NFκB com células H1975.

[0054] A Figura 39A demonstra a capacidade do parátopo 1C8 anti 4-1BB de camundongo para se ligar a 4-1BB cyno; a Figura 39D demonstra a capacidade do parátopo 1C8 anti-4-1BB humanizado de se ligar a 4-1BB cyno. A Figura 39B demonstra a capacidade do parátopo 1G1 anti 4-1BB de camundongo para se ligar a 4-1BB cyno; A Figura 39E demonstra a capacidade do parátopo 1G1 anti-4-1BB humanizado para se ligar a 4-1BB cyno. A Figura 39C demonstra a capacidade do parátopo 5G8 anti 4-1BB de camundongo de se ligar a 4-1BB cyno; a Figura 39F demonstra a capacidade do parátopo 5G8 anti-4-1BB humanizado de se ligar a 4-1BB cyno.

[0055] A Figura 40A mostra a sequência das CDRs do domínio variável da cadeia pesada de coelho de 8K22 portadas para uma estrutura humana; a Figura 40B mostra a

sequência das CDRs de domínio variável da cadeia leve de coelho de 8K22 portadas para uma estrutura humana. As sequências são numeradas de acordo com Kabat e os CDRs foram atribuídos com a definição AbM e são identificados por "*".

DESCRIÇÃO DETALHADA

[0056] A presente divulgação se refere a construtos de anticorpo 4-1BB x TAA que se ligam especificamente a um domínio extracelular 4-1BB (ECD) e a um antígeno associado a tumor (TAA). Em algumas modalidades, o TAA pode ser um receptor de folato-α (FRα), Solute Carrier Family 34 Membro 2 (SLC34A2 ou NaPi2b), HER2, mesotelina (MSLN) ou Solute Carrier Family 39 Membro 6 (SLC39A6 ou LIV-1). Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA podem ser capazes de intensificar condicionalmente a atividade das células T dentro de um tumor. Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA são capazes de promover agonismo condicional de 4-1BB. Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA podem ser mais eficazes na ativação de 4-1BB em células T na presença de células que expressam TAA em comparação com um anticorpo monoespecífico, monovalente anti-4-1BB, conforme medido pela produção de citocinas. Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA podem ser mais eficazes na ativação de 4-1BB em células T na presença de células tumorais que expressam o TAA em níveis médios a altos em comparação com a presença de células tumorais que expressam o TAA em níveis baixos. Assim, em modalidades relacionadas, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA podem ser usados para tratar o câncer.

[0057] A presente divulgação fornece ainda sequências de anticorpos que se ligam especificamente a 4-1BB (sequências de anticorpos anti-4-1BB). Estas sequências de anticorpos anti-4-1BB podem ser utilizadas na preparação de construtos de anticorpo monoespecífico, biespecífico ou multiespecífico que se ligam a 4-1BB (construtos de anticorpo 4-1BB). Estes construtos de anticorpo 4-1BB monoespecífico, biespecífico ou multiespecífico também podem ser usados no tratamento de câncer, tanto isoladamente quanto em combinação com outras terapias anticâncer.

Definições

[0058] A menos que definido de outro modo, todos os termos técnicos e científicos aqui utilizados têm o mesmo significado que é comumente entendido por um versado na técnica ao qual o assunto reivindicado pertence. No caso de haver uma pluralidade de

definições para os termos neste documento, aqueles nesta seção prevalecem. Quando é feita referência a um URL ou outro identificador ou endereço, entende-se que tais identificadores podem mudar e informações específicas na Internet podem ir e vir, mas informações equivalentes podem ser encontradas pesquisando na Internet. A referência a isso evidencia a disponibilidade e divulgação pública de tais informações.

[0059] Deve ser entendido que a descrição geral anterior e a descrição detalhada a seguir são exemplificativas e explicativas apenas e não são restritivas de qualquer assunto reivindicado. Neste pedido, o uso do singular inclui o plural, a menos que especificamente especificado de outra forma.

[0060] Na presente descrição, qualquer faixa de concentração, faixa de porcentagem, faixa de razão ou faixa de número inteiro deve ser entendida como incluindo o valor de qualquer número inteiro dentro da faixa mencionada e, quando apropriado, frações do mesmo (como um décimo e um centésimo de um número inteiro), a menos que indicado de outra forma. Como utilizado neste documento, "cerca de" significa ± 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% ou 10% da faixa, valor, sequência ou estrutura indicada, exceto quando indicado. Deve ser entendido que os termos "um" e "uma", conforme usados neste documento, referem-se a "um ou mais" dos componentes enumerados, a menos que indicado de outra forma ou ditado por seu contexto. O uso da alternativa (por exemplo, "ou") deve ser entendido significando um, ambos ou qualquer combinação dos mesmos das alternativas.

[0061] Conforme usado neste documento, os termos “incluir”, “ter”, “conter”, “compreender” e variações gramaticais dos mesmos são usados como sinônimos. Estes termos são inclusivos ou abertos e não excluem elementos adicionais não solicitados e / ou etapas do método. O termo "consistindo essencialmente em" quando usado neste documento em conexão com uma composição, uso ou método, denota que elementos adicionais e / ou etapas do método podem estar presentes, mas que essas adições não afetam materialmente a maneira pela qual a composição recitada, método ou uso funciona. O termo "consistindo em", quando usado neste documento em conexão com uma composição, uso ou método, exclui a presença de elementos adicionais e / ou etapas do método. Uma composição, uso ou método aqui descrito como compreendendo certos elementos e / ou etapas também pode, em certas modalidades, consistir essencialmente nesses elementos e / ou etapas, e em outras modalidades consistir nesses elementos e / ou etapas, sejam ou não essas modalidades especificamente mencionadas.

[0062] Também deve ser entendido que a recitação positiva de um recurso em uma modalidade serve como uma base para excluir o recurso em uma modalidade particular. Por exemplo, onde uma lista de opções é apresentada para uma determinada modalidade ou reivindicação, deve ser entendido que uma ou mais opções podem ser excluídas da lista e a lista reduzida pode formar uma modalidade alternativa, seja ou não tal modalidade alternativa especificamente referida.

[0063] Os títulos de seções usados aqui são para fins organizacionais apenas e não serão interpretados como limitando a matéria descrita. Todos os documentos ou porções de documentos citados no pedido, incluindo, mas não limitado a, patentes, pedidos de patentes, artigos, livros, manuais e tratados são expressamente incorporados por referência na sua totalidade para qualquer finalidade.

[0064] Deve ser entendido que os métodos e composições descritos neste documento não estão limitados à metodologia, protocolos, linhagens celulares, construtos e reagentes específicos descritos neste documento e, como tal, podem variar. Também deve ser entendido que a terminologia usada neste documento tem a finalidade de descrever modalidades particulares apenas e não se destina a limitar o escopo dos métodos e composições aqui descritos.

[0065] Todas as publicações e patentes aqui mencionadas são incorporadas neste documento por referência em sua totalidade com o propósito de descrever e divulgar, por exemplo, os construtos e metodologias que são descritos nas publicações, que podem ser usados em conexão com os métodos, composições e compostos descritos aqui. As publicações discutidas aqui são fornecidas unicamente pela sua divulgação antes da data de depósito do presente pedido. Nada neste documento deve ser interpretado como uma admissão de que os inventores descritos neste documento não têm o direito de antecipar tal divulgação em virtude de invenção anterior ou por qualquer outro motivo.

[0066] No presente pedido, nomes de aminoácidos e nomes de átomos (por exemplo, N, O, C, etc.) são usados conforme definido pelo Protein DataBank (PDB) (www.pdb.org), que é baseado na nomenclatura IUPAC (IUPAC Nomenclature and Symbolism for Amino Acids and Peptides (nomes de resíduos, nomes de átomos, etc.), Eur. J. Biochem., 138, 9-37 (1984) juntamente com as suas correções em Eur. J. Biochem., 152, 1 (1985). O termo "resíduo de aminoácido" destina-se principalmente a indicar um resíduo de aminoácido contido no grupo que consiste nos 20 aminoácidos de ocorrência natural, ou seja, alanina

(Ala ou A), cisteína (Cys ou C), ácido aspártico (Asp ou D), ácido glutâmico (Glu ou E), fenilalanina (Phe ou F), glicina (Gly ou G), histidina (His ou H), isoleucina (Ile ou I), lisina (Lys ou K), leucina (Leu ou L), metionina (Met ou M), asparagina (Asn ou N), prolina (Pro ou P), glutamina (Gln ou Q), arginina (Arg ou R), serina (Ser ou S), treonina (Thr ou T), valina (Val ou V), triptofano (Trp ou W) e resíduos de tirosina (Tyr ou Y).

[0067] Os termos entendidos por aqueles na técnica de tecnologia de anticorpos recebem cada um o significado adquirido na técnica, a menos que expressamente definido de forma diferente neste documento. Os anticorpos são conhecidos por terem regiões variáveis, uma região de dobradiça e domínios constantes. A estrutura e função da imunoglobulina são revistas, por exemplo, em Harlow et al, Eds., Antibodies: A Laboratory Manual, Chapter 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, 1988).

[0068] Como utilizado neste documento, os termos "anticorpo" e "imunoglobulina" são usados indistintamente. Um "anticorpo" refere-se a um polipeptídeo substancialmente codificado por um gene de imunoglobulina ou genes de imunoglobulina, ou um ou mais fragmentos dos mesmos, que se ligam especificamente a um analito (antígeno). Os genes de imunoglobulina reconhecidos incluem os genes da região constante kappa, lambda, alfa, gama, delta, épsilon e mu, bem como a miríade de genes da região variável de imunoglobulina. As cadeias leves são classificadas como kappa ou lambda. As cadeias pesadas são classificadas como gama, mu, alfa, delta ou épsilon, que por sua vez definem os isotipos de imunoglobulina, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente. Além disso, o anticorpo pode pertencer a um de vários subtipos, por exemplo, a IgG humana pode pertencer aos subtipos IgG1, IgG2, IgG3 ou IgG4.

[0069] Uma unidade estrutural de imunoglobulina (anticorpo) exemplificativa é composta por dois pares de cadeias polipeptídicas, cada par tendo uma cadeia "leve" de imunoglobulina (cerca de 25 kD) e uma cadeia "pesada" de imunoglobulina (cerca de 50-70 kD). Este tipo de imunoglobulina ou unidade estrutural de anticorpo é considerado "de ocorrência natural" ou em um "formato de ocorrência natural". O termo "cadeia leve" inclui uma cadeia leve de comprimento total e fragmentos da mesma com sequência de domínio variável suficiente para conferir especificidade de ligação. Uma cadeia leve de comprimento total inclui um domínio variável, VL, e um domínio constante, CL. O domínio variável da cadeia leve está no terminal amino do polipeptídeo. As cadeias leves incluem cadeias kappa e cadeias lambda. O termo "cadeia pesada" inclui uma cadeia pesada de comprimento total

e fragmentos da mesma com sequência de região variável suficiente para conferir especificidade de ligação. Uma cadeia pesada de comprimento total inclui um domínio variável, VH, uma região de dobradiça e domínios constantes, CH1, CH2 e CH3, opcionalmente um domínio CH4. O domínio VH está no terminal amino do polipeptídeo, e os domínios CH estão no terminal carboxil, com o domínio CH3 (ou CH4 quando presente) sendo mais próximo do terminal carboxi do polipeptídeo. As cadeias pesadas podem ser de qualquer isótipo, incluindo IgG (incluindo as subclasses IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4), IgA (incluindo as subclasses IgA1 e IgA2), IgM, IgD e IgE. O termo "região variável" ou "domínio variável" refere-se a uma porção das cadeias leves e / ou pesadas de um anticorpo geralmente responsável pelo reconhecimento do antígeno, tipicamente incluindo aproximadamente o terminal amino de 120 a 130 aminoácidos na cadeia pesada (VH) e cerca de 100 a 110 aminoácidos do terminal amino na cadeia leve (VL).

[0070] Os termos "antígeno", "imunógeno", "anticorpo alvo", "analito alvo" e termos semelhantes são usados neste documento para se referir a uma molécula, composto ou complexo que é reconhecido por um anticorpo, *isto é*, pode ser especificamente ligado pelo anticorpo. O termo pode se referir a uma molécula que pode ser especificamente reconhecida por um anticorpo, *por exemplo*, um polipeptídeo, polinucleotídeo, carboidrato, lipídeo, fração química ou combinações dos mesmos (por exemplo, polipeptídeos fosforilados ou glicosilados, etc.). Um versado na técnica entenderá que o termo não indica que a molécula é imunogênica em todos os contextos, mas simplesmente indica que ela pode ser direcionada por um anticorpo.

[0071] Um "domínio de ligação ao antígeno" é aquela porção de um anticorpo que é capaz de se ligar especificamente a um epítopo ou antígeno. A função de ligação ao epítopo ou ao antígeno de um anticorpo pode ser realizada por fragmentos de um anticorpo em um formato de ocorrência natural. Exemplos de domínios de ligação ao antígeno incluem (i) um fragmento Fab, um fragmento monovalente que consiste nos domínios VH, VL, CH1 e CL; (ii) um fragmento F(ab′)2, um fragmento bivalente compreendendo dois fragmentos Fab ligados por uma ponte dissulfeto na região de dobradiça; (iii) um fragmento Fd que consiste nos domínios VH e CH1; (iv) um fragmento Fv que consiste nos domínios VH e VL de um único braço de um anticorpo, (v) um fragmento sdAb (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546), que compreende um único domínio variável ; e (vi) uma região determinante de complementaridade (CDR) isolada. Formatos exemplificativos dos domínios de ligação ao

antígeno aqui descritos incluem, mas não estão limitados aos formatos Fab, scFv, VHH ou sdAb. Além disso, os métodos de conversão entre tipos de domínios de ligação ao antígeno são conhecidos na técnica (ver, por exemplo, métodos para converter um scFv em um formato Fab descrito em Zhou et al (2012) Mol Cancer Ther 11:1167-1476). Assim, se um anticorpo está disponível em um formato que inclui um domínio de ligação ao antígeno que é um scFv, mas é desejado que o construto do anticorpo compreenda um domínio de ligação ao antígeno em um formato Fab, um versado na técnica seria capaz para fazer essa conversão e vice-versa.

[0072] Um "fragmento Fab" (também referido como fragmento de ligação ao antígeno, formato Fab) inclui as sequências de domínio constante (CL) da cadeia leve e o domínio constante 1 (CH1) da cadeia pesada juntamente com os domínios variáveis VL e VH nas cadeias leve e pesada, respectivamente. Os domínios variáveis compreendem as CDRs, que estão envolvidas na ligação ao antígeno. Os fragmentos Fab′ diferem dos fragmentos Fab pela adição de alguns resíduos de aminoácidos no terminal C do domínio CH1 da cadeia pesada, incluindo uma ou mais cisteínas da região de dobradiça do anticorpo.

[0073] Um formato de "Fv de cadeia única" ou "scFv" inclui os domínios VH e VL de um anticorpo em uma única cadeia polipeptídica. O polipeptídeo scFv pode opcionalmente compreender ainda um ligante polipeptídico entre os domínios VH e VL que permite que o scFv forme uma estrutura desejada para ligação ao antígeno. Para uma revisão de scFvs, ver Pluckthun em *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

[0074] Um formato de "anticorpo de domínio único" ou "sdAb" refere-se a um único domínio de imunoglobulina. O sdAb pode ser, por exemplo, de origem camelídeo. Os anticorpos camelídeos não possuem cadeias leves e seus sítios de ligação ao antígeno consistem em um único domínio, denominado "VHH". Um sdAb compreende três CDR / alças hipervariáveis que formam o sítio de ligação ao antígeno: CDR1, CDR2 e CDR3. SdAbs são bastante estáveis e podem ser expressos como uma fusão com a região Fc de um anticorpo (ver, por exemplo, Harmsen MM, De Haard HJ (2007) "Properties, production, and applications of camelid single-domain antibody fragments, " Appl. Microbiol Biotechnol. 77(1): 13-22).

[0075] Os anticorpos se ligam a um "epítopo" em um antígeno. O epítopo é o sítio localizado no antígeno que é reconhecido e ligado pelo anticorpo. Os epítopos podem incluir

alguns aminoácidos, por exemplo, 5 ou 6 ou mais, por exemplo, 20 ou mais aminoácidos. Em alguns casos, o epítopo inclui componentes não proteicos, por exemplo, de um carboidrato, ácido nucleico ou lipídeo. Em alguns casos, o epítopo é uma fração tridimensional. Assim, por exemplo, onde o alvo é uma proteína, o epítopo pode ser composto de aminoácidos consecutivos ou aminoácidos de diferentes partes da proteína que são colocados em proximidade pelo dobramento de proteína (por exemplo, um epítopo descontínuo). O mesmo é verdadeiro para outros tipos de moléculas-alvo que formam estruturas tridimensionais.

[0076] Um epítopo pode ser determinado pela obtenção de uma estrutura de cristal de raios-X de um complexo de anticorpo:antígeno e determinar quais resíduos no antígeno estão dentro de uma distância especificada de resíduos no anticorpo de interesse, em que a distância especificada é de 5Å ou menos, por exemplo, 5Å, 4Å, 3Å, 2Å, 1Å ou menos, ou qualquer distância entre eles. Em algumas modalidades, o epítopo é definido como um trecho de 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos ao longo da sequência de antígeno em que pelo menos 50%, 70% ou 85% dos resíduos estão dentro da distância especificada do anticorpo ou proteína de ligação na estrutura de cristal de raios-X. O mapeamento de epítopos reconhecidos por anticorpos também pode ser realizado conforme descrito em detalhes em "Epitope Mapping Protocols" (Methods in Molecular Biology) por Glenn E. Morris ISBN-089603-375-9 (1996), e em "Epitope Mapping: A Practical Approach" Practical Approach Series, 248 by Olwyn M. R. Westwood, Frank C. Hay. (2001). Por exemplo, cocristalografia de raios-X, microscopia eletrônica criogênica, varredura de oligo-peptídeo baseada em arranjo, mapeamento de mutagênese direcionada, troca de hidrogênio-deutério, espectrometria de massa acoplada por reticulação, podem ser usados para determinar ou mapear epítopos. Estes métodos são bem conhecidos na técnica.

[0077] O termo "liga-se especificamente", como utilizado neste documento, refere-se à capacidade de um agente de ligação para discriminar entre possíveis parceiros no ambiente em que a ligação deve ocorrer. Um agente de ligação pode ser um anticorpo, construto de anticorpo ou domínio de ligação ao antígeno, por exemplo. Um agente de ligação que interage com um alvo específico quando outros alvos potenciais estão presentes é chamado de "ligar-se especificamente" ao alvo com o qual interage. Em algumas modalidades, a ligação específica é avaliada pela detecção ou determinação do grau de associação entre o agente de ligação e seu parceiro; em algumas modalidades, a ligação

específica é avaliada pela detecção ou determinação do grau de dissociação de um complexo agente de ligação-parceiro; em algumas modalidades, a ligação específica é avaliada pela detecção ou determinação da capacidade do agente de ligação para competir uma interação alternativa entre seu parceiro e outra entidade. Em algumas modalidades, a ligação específica é avaliada pela realização de tais detecções ou determinações em uma faixa de concentrações. O termo "liga-se especificamente", como utilizado neste documento em relação aos domínios de ligação ao antígeno, anticorpos ou construtos de anticorpos, significa que os domínios de ligação ao antígeno, anticorpos ou construtos de anticorpos se ligam ao seu antígeno alvo sem ligação ou com ligação insignificante a outros antígenos.

[0078] Uma "região determinante de complementaridade" ou "CDR" é uma sequência de aminoácidos que contribui para a especificidade e afinidade de ligação ao antígeno. As regiões de "estrutura" (FR) podem ajudar a manter a conformação adequada das CDRs para promover a ligação entre a região de ligação ao antígeno e um antígeno. Estruturalmente, as regiões estruturais podem estar localizadas em anticorpos entre CDRs. As regiões variáveis geralmente exibem a mesma estrutura geral de regiões de estrutura relativamente conservadas (FR) unidas por três regiões hipervariáveis, também conhecidas como CDRs. As CDRs dos domínios variáveis da cadeia pesada e da cadeia leve são tipicamente alinhadas pelas regiões estruturais, que podem permitir a ligação a um epítopo específico. Do terminal N ao terminal C, os domínios variáveis da cadeia leve e pesada tipicamente compreendem os domínios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 e FR4. A atribuição de aminoácidos a cada domínio é tipicamente de acordo com as definições de Sequências de Kabat de Proteínas de Interesse Imunológico (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 e 1991)), a menos que indicado de outra forma. Tipicamente, existem três CDRs de cadeia pesada e três de cadeia leve (ou regiões CDR) na porção variável de uma imunoglobulina. As três CDRs de cadeia pesada são referidas neste documento como HCDR1, HCDR2 e HCDR3, enquanto as três CDRs de cadeia leve são referidas como LCDR1, LCDR2 e LCDR3. Assim, "CDRs", conforme usado neste documento, pode se referir a todas as três CDRs de cadeia pesada ou todas as três CDRs de cadeia leve (ou a todas as CDRs de cadeia pesada e todas as cadeias leves, se apropriado). As CDRs fornecem a maioria dos resíduos de contato para a ligação do anticorpo ao antígeno ou epítopo. Frequentemente, as três CDRs da cadeia pesada e as três CDRs da cadeia leve são necessárias para ligar o antígeno. No entanto, em alguns casos, mesmo um único domínio variável pode

conferir especificidade de ligação ao antígeno. Além disso, como é conhecido na técnica, em alguns casos, a ligação ao antígeno também pode ocorrer por meio de uma combinação de um mínimo de uma ou mais CDRs selecionadas dos domínios VH e / ou VL, por exemplo HCDR3.

[0079] Várias definições diferentes das sequências CDR são de uso comum, incluindo aquelas descritas por Kabat *et al.* (1983, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, NIH Publication No. 369-847, Bethesda, MD), por Chothia *et al.* (1987, *J Mol Biol*, 196:901-917), assim como a IMGT, AbM (University of Bath) e Contact (MacCallum R. M., and Martin A. C. R. and Thornton J. M, (1996), Journal of Molecular Biology, 262 (5), 732-745) definições. A título de exemplo, as definições de CDR de acordo com Kabat, Chothia, IMGT, AbM e Contact são fornecidas na Tabela A abaixo. Consequentemente, como seria prontamente evidente para um versado na técnica, a numeração e colocação exatas das CDRs podem diferir com base no sistema de numeração empregado. No entanto, deve ser entendido que a divulgação neste documento de um VH inclui a divulgação das CDRs de cadeia pesada (HCDRs) associados (inerentes), conforme definido por qualquer um dos sistemas de numeração conhecidos. Da mesma forma, a divulgação neste documento de um VH inclui a divulgação das CDRs de cadeia pesada (HCDRs) associadas (inerentes), conforme definido por qualquer um dos sistemas de numeração conhecidos.

Tabela A: Definições de CDR comum[1]

Definição	**Cadeia pesada**			**Cadeia leve**		
	CDR1[2]	**CDR2**	**CDR3**	**CDR1**	**CDR2**	**CDR3**
Kabat	H31-H35B	H50-H65	H95-H102	L24-L34	L50-L56	L89-L97
Chothia	H26-H32, H33 ou H34	H52-H56	H95-H102	L24-L34	L50-L56	L89-L97
IMGT	H26-H33, H34, H35, H35A ou H35B	H51-H57	H93-H102	L27-L32	L50-L52	L89-L97
AbM	H26-H35B	H50-H58	H95-H102	L24-L34	L50-L56	L89-L97

Definição	Cadeia pesada			Cadeia leve		
	CDR1[2]	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
Contato	H30-H35B	H47-H58	H93-H101	L30-L36	L46-L55	L89-L96

[1] O sistema de numeração Kabat ou Chothia pode ser usado para HCDR2, HCDR3 e as CDRs da cadeia leve para todas as definições, exceto Contato, que usa a numeração Chothia

[2] Usando a numeração de Kabat. A posição no esquema de numeração de Kabat que demarca o final da alça Chothia e IMGT CDR-H1 varia dependendo do comprimento da alça porque Kabat coloca insertos fora dessas definições de CDR nas posições 35A e 35B. No entanto, a alça IMGT e Chothia CDR-H1 pode ser definido de forma inequívoca usando a numeração de Chothia. Definições de CDR-H1 usando numeração de Chothia: Kabat H31-H35, Chothia H26-H32, AbM H26-H35, IMGT H26-H33, Contato H30-H35.

[0080] Ao longo deste relatório descritivo, os resíduos de aminoácidos nas sequências VH e VL são numerados de acordo com o esquema de Kabat, a menos que indicado de outra forma.

[0081] "Anticorpo quimérico", como utilizado neste documento, refere-se a um anticorpo cuja sequência de aminoácidos inclui sequências VH e VL que são encontradas em uma primeira espécie e sequências de domínio constante que são encontradas em uma segunda espécie, diferente da primeira espécie. Em muitas modalidades, um anticorpo quimérico tem sequências VH e VL murinas ligadas a sequências de domínio constante humano.

[0082] As formas "humanizadas" de anticorpos não humanos (por exemplo, roedores) são anticorpos que contêm uma sequência mínima derivada de imunoglobulina não humana. Na maior parte, os anticorpos humanizados são imunoglobulinas humanas (anticorpo receptor) em que os resíduos de uma região hipervariável do receptor são substituídos por resíduos de uma região hipervariável de uma espécie não humana (anticorpo doador), como camundongo, rato, coelho ou primata não humano com a especificidade, afinidade ou capacidade desejada. Em alguns casos, resíduos de região de estrutura (FR) da imunoglobulina humana são substituídos por resíduos não humanos correspondentes. Além disso, os anticorpos humanizados podem compreender resíduos que não são encontrados no

anticorpo receptor ou no anticorpo doador. Estas modificações são feitas para refinar adicionalmente o desempenho de anticorpo. Em geral, o anticorpo humanizado compreenderá substancialmente todos de pelo menos um, e tipicamente dois, domínios variáveis, em que todas ou substancialmente todas as regiões hipervariáveis correspondem àquelas de uma imunoglobulina não humana e todas ou substancialmente todas as FRs são as de uma sequência de imunoglobulina humana. O anticorpo humanizado opcionalmente também irá compreender pelo menos uma porção de uma região constante de imunoglobulina (Fc), tipicamente aquela de uma imunoglobulina humana. Para mais detalhes, ver, por exemplo, Jones et al., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); e Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992).

[0083] "Anticorpo enxertado com CDR" ou "anticorpo portado para CDR", como utilizado neste documento, refere-se a um anticorpo cuja sequência de aminoácidos compreende sequências da região variável da cadeia pesada e leve de uma espécie, mas em que as sequências de uma ou mais das sequências de CDR de sequências de VH e / ou VL são substituídas por sequências de CDR de outra espécie, como anticorpos com sequências de VH e VL de camundongo em que uma ou mais das CDRs de camundongo (por exemplo, HCDR3) foram substituídas por sequências de CDR humanas. Da mesma forma, um "anticorpo enxertado com CDR" também pode se referir a anticorpos com regiões VH e VL humanas nas quais uma ou mais das CDRs humanas (por exemplo, CDR3) foram substituídas por sequências de CDR de camundongo.

[0084] Como utilizado neste documento, um primeiro anticorpo, ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo, "compete" pela ligação a um alvo com um segundo anticorpo, ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo, quando a ligação do segundo anticorpo com o alvo é detectavelmente diminuída na presença do primeiro anticorpo em comparação com a ligação do segundo anticorpo na ausência do primeiro anticorpo. A alternativa, onde a ligação do primeiro anticorpo ao alvo também é detectavelmente diminuída na presença do segundo anticorpo, pode, mas não precisa ser o caso. Ou seja, um segundo anticorpo pode inibir a ligação de um primeiro anticorpo ao alvo sem que esse primeiro anticorpo iniba a ligação do segundo anticorpo ao alvo. No entanto, onde cada anticorpo inibe de forma detectável a ligação do outro anticorpo ao seu epítopo ou ligano cognato, seja na mesma, maior ou menor extensão, diz-que os anticorpos "competem de forma cruzada" entre si para a ligação de seu respectivo epítopo(s). Ambos os anticorpos competidores e de competição

cruzada são abrangidos pela presente divulgação. O termo anticorpo "competidor" pode ser aplicado ao primeiro ou segundo anticorpo, conforme pode ser determinado por um versado na técnica. Em alguns casos, a presença do anticorpo competidor (por exemplo, o primeiro anticorpo) reduz a ligação do segundo anticorpo ao alvo em pelo menos 10%, por exemplo, pelo menos 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% ou mais, por exemplo, de modo que a ligação do segundo anticorpo ao alvo seja indetectável na presença do primeiro (competidor) anticorpo.

[0085] O termo "constante de dissociação (K_D ou K_d)", como utilizado neste documento, destina-se a referir à constante de dissociação de equilíbrio de uma interação ligando-proteína particular. Como utilizado neste documento, as interações ligando-proteína referem-se a, mas não estão limitadas a, interações proteína-proteína ou interações anticorpo-antígeno. O K_D mede a propensão de duas proteínas complexadas juntas (por exemplo, AB) para se dissociar reversivelmente em componentes constituintes (A + B), e é definido como a razão da taxa de dissociação, também chamada de "taxa off (k_{off}) ", à taxa de associação, ou "taxa on (k_{on}) ". Assim, K_D é igual a k_{off}/k_{on} e é expresso como uma concentração molar (M). Conclui-se que quanto menor o K_D, mais forte é a afinidade de ligação e, portanto, uma diminuição no K_D indica um aumento na afinidade.Portanto, um K_D de 1 mM indica afinidade de ligação fraca em comparação com um K_D de 1 nM. A afinidade às vezes é medida em termos de um K_A ou K_a, que é o recíproco do K_D ou K_d. Os valores K_D para construtos de ligação ao antígeno podem ser determinados usando métodos bem estabelecidos na técnica. Um método para determinar o K_D de um construto de ligação ao antígeno é usando ressonância plasmônica de superfície (SPR), normalmente usando um sistema biossensor, como um sistema Biacore®. Calorimetria de titulação isotérmica (ITC) é outro método que pode ser usado para medir K_D. O sistema Octet™ também pode ser usado para medir a afinidade de anticorpos para um antígeno alvo.

[0086] Como utilizado neste documento, o termo "agonismo condicional" se destina a referir-se à capacidade dos construtos de anticorpo 4-1BB x TAA de agonizar a atividade de 4-1BB em células imunes, como por exemplo, células T ou células NK, predominantemente quando as células imunes estão na proximidade de células que expressam TAA. Em uma modalidade, agonismo condicional ”refere-se à capacidade dos construtos de anticorpo 4-1BB x TAA de agonizar a atividade de 4-1BB em células imunes apenas quando as células imunes estão na proximidade de células que expressam TAA.

[0087] O termo "modificações de aminoácidos", como utilizado neste documento, inclui, mas não está limitado a, inserções, deleções, substituições, modificações químicas, modificações físicas e rearranjos de aminoácidos. Em algumas modalidades, a modificação de aminoácido é uma substituição de aminoácido.

[0088] Os resíduos de aminoácidos para as cadeias pesada e leve de imunoglobulina podem ser numerados de acordo com várias convenções, incluindo Kabat (como descrito em Kabat e Wu, 1991; Kabat *et al*, Sequences of protein of immunological interest. 5th Edition - US Department of Health and Human Services, NIH publication no. 91-3242, p 647 (1991)), IMGT (como estabelecido em Lefranc, M.-P., *et al*. IMGT®, o sistema internacional de informação ImMunoGeneTics® Nucl. Acids Res, 37, D1006-D1012 (2009), e Lefranc, M.-P., IMGT, the International ImMunoGeneTics Information System, Cold Spring Harb Protoc. 2011 Jun 1; 2011(6)), 1JPT (como descrito em Katja Faelber, Daniel Kirchhofer, Leonard Presta, Robert F Kelley, Yves A Muller, The 1.85 Å resolution crystal structures of tissue factor in complex with humanized fab d3h44 and of free humanized fab d3h44: revisiting the solvation of antigen combining sites1, Journal of Molecular Biology, Volume 313, Edição 1, Páginas 83-97,) e EU (de acordo com o índice EU como em Kabat referindo-se à numeração do anticorpo EU (Edelman et al., 1969, Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85)). A numeração de Kabat é usada aqui para os domínios VH, CH1, CL e VL, a menos que indicado de outra forma. A numeração EU é usada aqui para os domínios CH3 e CH2 e a região de dobradiça, a menos que indicado de outra forma.

Construtos de anticorpos

[0089] "Construto de anticorpo", como utilizado neste documento, refere-se a um polipeptídeo ou um conjunto de polipeptídeos que se ligam especificamente a um epítopo ou antígeno e incluem uma ou mais características estruturais de imunoglobulina. Em geral, um construto de anticorpo é um polipeptídeo ou conjunto de polipeptídeos cuja sequência de aminoácidos inclui elementos característicos de um domínio de ligação ao antígeno (por exemplo, uma cadeia leve de anticorpo ou região variável ou uma ou mais regiões determinantes de complementaridade ("CDRs") dos mesmos, ou uma cadeia pesada de anticorpo ou região variável ou uma mais CDRs dos mesmos, opcionalmente na presença de uma ou mais regiões de estrutura). Em algumas modalidades, um construto de anticorpo é ou compreende um anticorpo em um formato de ocorrência natural. Em algumas modalidades, o termo "construto de anticorpo" abrange uma proteína com um domínio de

ligação que é homólogo ou amplamente homólogo a um domínio de ligação de imunoglobulina. Em algumas modalidades, um construto de anticorpo compreende um fragmento de um anticorpo de ocorrência natural, incluindo pelo menos um domínio de ligação ao antígeno. Em algumas modalidades, o construto de anticorpo pode compreender ainda um domínio de ligação que não é um domínio de ligação ao antígeno, por exemplo, um ligando para uma proteína alvo.

[0090] Em modalidades particulares, um "construto de anticorpo" abrange polipeptídeos com um domínio de ligação ao antígeno que mostra pelo menos 99% de identidade com um domínio de ligação de imunoglobulina. Em algumas modalidades, um "construto de anticorpo" é qualquer polipeptídeo com um domínio de ligação que mostra pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ou 98% de identidade com um domínio de ligação de imunoglobulina, por exemplo, domínio de ligação de imunoglobulina de referência. Um "construto de anticorpo" pode ter uma sequência de aminoácidos idêntica à de um anticorpo (ou um fragmento do mesmo, por exemplo, um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo) que é encontrado em uma fonte natural. Um "fragmento de ligação ao antígeno" de um anticorpo inclui um fragmento de um anticorpo com um domínio de ligação ao antígeno com a especificidade necessária. Assim, um fragmento de ligação ao antígeno inclui fragmentos de anticorpo, derivados, equivalentes funcionais e homólogos de anticorpos, anticorpos humanizados, incluindo qualquer polipeptídeo compreendendo um domínio de ligação de imunoglobulina, seja natural ou totalmente ou parcialmente sintético. Moléculas quiméricas compreendendo um domínio de ligação de imunoglobulina, ou equivalente, fundido a outro polipeptídeo também estão incluídas.

[0091] Um construto de anticorpo pode ser monoespecífico, biespecífico ou multiespecífico e pode se ligar a pelo menos um alvo distinto, antígeno ou epítopo. Os construtos de anticorpos podem ser preparados em muitos formatos e formatos de construtos de anticorpos exemplifcativos são descritos nas Figuras 1 e 2 e em outros lugares ao longo do pedido. O termo "construto de anticorpo", como utilizado neste documento, pretende abranger construtos de anticorpo monoespecíficos, biespecíficos ou multiespecíficos. Um construto de anticorpo "monoespecífico" é uma espécie de construto de anticorpo que se liga a um alvo, antígeno ou epítopo. Os construtos de anticorpos monoespecíficos podem compreender um ou mais domínios de ligação ao antígeno, cada um se ligando ao mesmo epítopo. Os construtos de anticorpos monoespecíficos podem ser monovalentes (*isto é* tendo

apenas um braço ou parátopo), bivalentes (*isto é*, tendo dois braços ou parátopos, ambos se ligando ao mesmo epítopo) ou multivalentes (*isto é* tendo vários braços ou parátopos, todos se ligando ao mesmo epítopo). Um construto de anticorpo "biespecífico" é uma espécie de construto de anticorpo que direciona dois antígenos ou epítopos diferentes. Em geral, um construto de anticorpo biespecífico pode ter dois domínios de ligação ao antígeno, embora, em algumas modalidades, um construto de anticorpo biespecífico possa ter mais de dois domínios de ligação ao antígeno, desde que não mais do que dois epítopos únicos sejam reconhecidos pelos domínios de ligação ao antígeno. Os dois ou mais domínios de ligação ao antígeno de um construto de anticorpo biespecífico se ligarão a dois epítopos diferentes, que podem residir no mesmo ou em diferentes alvos moleculares. Quando os dois epítopos diferentes residem no mesmo alvo molecular, o construto de anticorpo biespecífico é referido neste documento como "biparatópico". Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo monoespecífico ou biespecífico estão em um formato de ocorrência natural, também referido neste documento como um formato de tamanho completo (FSA). Em outras palavras, na última modalidade, o construto de anticorpo monoespecífico ou biespecífico tem o mesmo formato que um anticorpo IgG, IgA, IgM, IgD ou IgE de ocorrência natural.

[0092] Um construto de anticorpo multiespecífico pode incluir três ou mais domínios de ligação ao antígeno, cada um capaz de se ligar a um alvo ou epítopo diferente. Em algumas modalidades, o construto de anticorpo multiespecífico compreende um formato que é o mesmo que um anticorpo IgG, IgA, IgM, IgD ou IgE de ocorrência natural, mas inclui ainda um ou mais domínios de ligação ao antígeno adicionais.

[0093] Em algumas modalidades, um construto de anticorpo pode ter elementos estruturais característicos de anticorpos quiméricos ou humanizados ou pode ter sequências de aminoácidos derivadas de anticorpos quiméricos ou humanizados. Em algumas modalidades, um construto de anticorpo pode ter elementos estruturais característicos de um anticorpo humano.

[0094] São descritos neste documento construtos de anticorpos capazes de se ligar ao domínio extracelular (ECD) de 4-1BB e a um antígeno associado a tumor (TAA). Também são descritos aqui construtos de anticorpos compreendendo sequências que se ligam especificamente ao ECD de 4-1BB.

Construtos de anticorpo que se ligam a 4-1BB e a um TAA (construtos de anticorpo 4-1BB x TAA)

[0095] Os construtos de anticorpos capazes de se ligar ao ECD de 4-1BB e a um TAA compreendem um domínio de ligação 4-1BB que se liga a um 4-1BB ECD e um domínio de ligação ao antígeno TAA, em que o domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime. Por conseguinte, em certas modalidades, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA aqui descritos são construtos de anticorpo biespecífico que se ligam a dois alvos distintos. Em certas outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA pode ser um construto de anticorpo multiespecífico onde o construto de anticorpo 4-1BB x TAA se liga a 4-1BB e a dois ou mais TAAs distintos. Em modalidades relacionadas, o andaime é um construto Fc. Em certas modalidades, o andaime é um construto Fc com modificações que reduzem sua capacidade de mediar a função efetora.

[0096] Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA são capazes de se ligar a células que expressam 4-1BB. Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA são capazes de se ligar a TAAs expressos na superfície das células cancerígenas. Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA são capazes de ativar a sinalização de 4-1BB em células que expressam 4-1BB. Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA são capazes de intensificar a ativação de células T estimuladas por CD3.

Domínios de ligação 4-1BB

[0097] 4-1BB (também conhecido como TNFRSF9 ou CD137) é um membro da superfamília de receptores de TNF. O 4-1BB humano é uma proteína de 255 aminoácidos (Nos. de Acessão NM_001561 e UniProt Q07011 para sequências de mRNA e polipeptídeos, respectivamente). A sequência de aminoácidos de 4-1BB humana completa é fornecida na SEQ ID NO: 79. A sequência mostrada na SEQ ID NO: 1 inclui uma sequência de sinal (resíduos de aminoácidos 1-23), um domínio extracelular (ECD, resíduos de aminoácidos 23-187), uma região transmembranar (aminoácidos 188 a 213) e um domínio intracelular (aminoácidos 214 a 255) (Bitra *et al.* J. Biol. Chem. (2018) 293(26) 9958 –9969).

[0098] O receptor 4-1BB é expresso na superfície da célula nas formas monomérica e dimérica e provavelmente trimeriza com o ligando 4-1BB para permitir a sinalização. A estrutura da proteína 4-1BB de mamífero consiste em quatro domínios ricos em cisteína

(CRDs) que mostram homologia com outros membros da superfamília TNFR. O CRD1 consiste nos aminoácidos 24 a 45, e tanto o 4-1BB de camundongo quanto o humano não tem um dissulfeto encontrado em outros membros da superfamília do TNFR. CRD2 e CRD3 estendem-se dos aminoácidos 47 a 86 e 87 a 118, respectivamente, e são os domínios que contatam 4-1BBL (Bitra *et al.*, *supra*). CRD4 é constituído pelos aminoácidos 119 a 159 e é seguido por uma curta região de pedúnculo compreendida nos aminoácidos 160 do domínio transmembranar no aminoácido 187 (com referência à SEQ ID NO: 79). CRD1, CRD2, CRD3 e CDR4 também são referidos neste documento como domínios 1, 2, 3 e 4, respectivamente.

[0099] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação 4-1BB. Em algumas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA pode compreender mais de um domínio de ligação 4-1BB. Em certas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende dois domínios de ligação 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno TAA, em que o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime. Em modalidades relacionadas, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende dois domínios de ligação 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno TAA, em que o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime, e em que pelo menos um dos domínios de ligação 4-1BB é um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB. Em modalidades relacionadas, onde o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende dois ou mais domínios de ligação ao antígeno 4-1BB, cada domínio de ligação ao antígeno 4-1BB pode se ligar ao mesmo epítopo do ECD de 4-1BB, ou eles podem ligar a diferentes epítopos do ECD de 4-1BB. Em outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação 4-1BB que é um domínio de ligação ao antígeno e um domínio de ligação ao antígeno TAA.

[00100] Em ainda outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende três ou mais domínios de ligação de 4-1BB que se ligam ao ECD de 4-1BB. Em uma modalidade, os três ou mais domínios de ligação 4-1BB incluem pelo menos um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB. Em uma modalidade, os três ou mais domínios de ligação 4-1BB incluem pelo menos dois domínios de ligação ao antígeno 4-1BB. Na última modalidade, os dois domínios de ligação ao antígeno 4-1BB podem se ligar ao mesmo epítopo de 4-1BB ou podem se ligar a diferentes epítopos de 4-1BB.

[00101] Os domínios de ligação ao antígeno 4-1BB podem estar nos formatos scFv, Fab ou sdAb. Assim, em uma modalidade, o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB do construto de anticorpo 4-1BB x TAA está em um formato Fab. Em modalidades alternativas, o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB está em um formato scFv. Em modalidades adicionais, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende mais de um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB, em que pelo menos um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB está em um formato Fab. Em outras modalidades em que 4-1BB x TAA compreende mais de um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB, pelo menos dois dos domínios de ligação ao antígeno estão no formato Fab.

[00102] O construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação 4-1BB que se liga ao ECD de 4-1BB. Em certas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação de 4-1BB que pode se ligar a um ECD de 4-1BB humano. Domínios de ligação de 4-1BB adequados incluem moléculas de ocorrência natural, tais como ligandos ou fragmentos de ligação de 4-1BB dos mesmos. Exemplos de tais moléculas incluem ligando 4-1BB (ver NP_003802.1, por exemplo), também conhecido como TNFSF9 ou CD137L. Assim, em uma modalidade, o construto de anticorpo compreende um domínio de ligação 4-1BB que se liga a um ligando 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno TAA, em que o domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime.

[00103] Conforme indicado acima, em algumas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação 4-1BB que é um domínio de ligação ao antígeno. Os domínios de ligação ao antígeno podem ser construídos a partir das sequências de anticorpos que se ligam ao ECD de 4-1BB. Os anticorpos adequados incluem aqueles que são conhecidos na técnica, comercialmente disponíveis, ou aqueles que são identificados e preparados de acordo com métodos bem conhecidos na técnica e aqui descritos. Os domínios de ligação ao antígeno 4-1BB podem ser construídos a partir de anticorpos anti-4-1BB de camundongo, humano, humanizado ou quimérico. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB é derivado de um anticorpo agonístico anti-4-1BB. Os anticorpos agonísticos anti-4-1BB ligam-se a 4-1BB e são capazes de estimular a atividade de sinalização de 4-1BB. A atividade de sinalização de 4-1BB se refere a pelo menos uma das atividades que podem ser exibidas por 4-1BB *in vitro* ou *in vivo*. Por exemplo, essas atividades podem incluir a estimulação da liberação de citocinas de células

T ou NK, ou um aumento na atividade metabólica por células T ou NK, ou intensificação da atividade citotóxica por células T ou NK.

[00104] Numerosos anticorpos que se ligam a 4-1BB humano são conhecidos na técnica, por exemplo e não estão limitados a, utomilumabe (descrito em WO2012 / 032433, Pfizer), urelumabe (descrito em WO2004 / 010947 e WO2005 / 035584, BMS), e os anticorpos descritos em WO 2018/156740 (Macrogenics), US 8.337.850 (Pfizer), US 2018/0258177 (Eutilex) WO2017 / 077085 (Cancer Research Technologies) e WO2006126835 (University of Ulsan). Urelumabe e utomilumabe são anticorpos agonísticos anti-4-1BB exemplificativos.

[00105] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que pode competir com um dos anticorpos descritos no parágrafo anterior pela ligação a um epítopo de 4-1BB ECD. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que pode competir com utomilumabe pela ligação a um epítopo de 4-1BB ECD. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que pode competir com o urelumabe pela ligação a um epítopo de 4-1BB ECD. Em ainda outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que pode competir com os anticorpos anti-4-1BB descritos em US 8.337.850 pela ligação a um epítopo de 4-1BB ECD. Em ainda uma outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que pode competir com os anticorpos anti-4-1BB descritos em US 2018/0258177 pela ligação a um epítopo de 4-1BB ECD. Em ainda uma outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que pode competir com os anticorpos anti-4-1BB descritos em WO2018 / 156740 pela ligação a um epítopo de 4-1BB ECD. Em outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que se liga ao mesmo epítopo de 4-1BB ECD como utomilumabe, ou urelumabe, ou qualquer um dos anticorpos anti-4-1BB descritos em US 8.337.850, US 2018/0258177 ou WO2018 / 156740.

[00106] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que se liga a um 4-1BB ECD diferente do domínio 3 ou domínio 4. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB

x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que se liga a um epítopo pelo menos parcialmente dentro dos resíduos de aminoácidos 24-85 da proteína 4-1BB madura (SEQ ID NO: 79). Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que se liga ao domínio 1 de 4-1BB. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que se liga ao domínio 2 de 4-1BB. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que se liga ao domínio 3 de 4-1BB. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que se liga ao domínio 4 de 4-1BB.

[00107] Em algumas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que se liga ao ECD de humano e cynomolgus 4-1BB.

[00108] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que compreende pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia pesada e / ou pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia leve de urelumabe, utomilumabe ou qualquer um dos anticorpos anti-4-1BB descritos em US 8.337.850, US 2018/0258177 ou WO2018 / 156740. Em uma modalidade alternativa, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que compreende pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia pesada e pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia leve de urelumabe, utomilumabe ou qualquer um dos anticorpos anti-4-1BB descritos em US 8.337.850, US 2018/0258177 ou WO2018 / 156740. Em outras modalidades, o construto 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos cerca de 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência VH de urelumabe, utomilumabe ou qualquer um dos anticorpos anti-4-1BB descritos em US 8.337.850, US 2018/0258177 ou WO2018 / 156740. As sequências VH e VL específicas de MOR7480.1, um dos anticorpos descritos em US 8.337.850, são fornecidas como SEQ ID NOs: 71 e 72, respectivamente, na Tabela 15. Os CDRs de MOR7480.1 são fornecidos na Tabela B abaixo. As sequências de VH, VL e CDR dos outros domínios de ligação ao antígeno 4-1BB descritos acima podem ser facilmente determinadas por um versado na técnica com referência às divulgações de US 8.337.850, US 2018/0258177, WO2018 / 156740, WO2004 / 010947, WO2005 / 035584, US

2018/0258177, WO2017 / 077085 ou WO2006126835.

Tabela B: CRDs MOR7480.1

	Definição	**CDR1**	**CDR2**	**CDR3**
Cadeia pesada	Kabat	TYWIS (SEQ ID NO: 358)	KIYPGDSYTNYSPSFQG (SEQ ID NO: 359)	GYGIFDY (SEQ ID NO: 360)
	Chothia	GYSFSTY (SEQ ID NO: 361)	YPGDSY (SEQ ID NO: 362)	GYGIFDY (SEQ ID NO: 360)
	IMGT	GYSFSTYW (SEQ ID NO:363)	IYPGDSYT (SEQ ID NO:364)	ARGYGIFDY (SEQ ID NO:365)
	AbM	GYSFSTYWIS (SEQ ID NO:366)	KIYPGDSYTN (SEQ ID NO:367)	GYGIFDY (SEQ ID NO: 360)
Cadeia leve	Kabat	SGDNIGDQYAH (SEQ ID NO: 368)	QDKNRPS (SEQ ID NO:369)	ATYTGFGSLAV (SEQ ID NO:370)
	Chothia	SGDNIGDQYAH (SEQ ID NO: 368)	QDKNRPS (SEQ ID NO:369)	ATYTGFGSLAV (SEQ ID NO:370)
	IMGT	NIGDQY (SEQ ID NO:371)	QDK	ATYTGFGSLAV (SEQ ID NO:370)
	AbM	SGDNIGDQYAH (SEQ ID NO: 368)	QDKNRPS (SEQ ID NO:369)	ATYTGFGSLAV (SEQ ID NO:370)

[00109] Sequências adicionais de VH, VL e CDR de anticorpos que se ligam a 4-1BB são descritas abaixo e na Tabela 13; estes anticorpos são identificados como 1B2, 1C3, 1C8, 1G1, 2A7, 2E8, 2H9, 3D7, 3H1, 3E7, 3G4, 4B11, 4E6, 4F9, 4G10, 5E2, 5G8 e 6B3. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, ou 99% idêntica à sequência VH e à sequência VL de qualquer um dos anticorpos 1B2, 1C3, 1C8, 1G1, 2A7, 2E8, 2H9, 3D7, 3H1, 3E7, 3G4, 4B11, 4E6, 4F9, 4G10, 5E2, 5G8, ou 6B3 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 1B2 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 1B2 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 1C3 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 1C3 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 1C8 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 1C8 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 1G1 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 1G1 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 2A7

conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 2A7 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 2E8 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 2E8 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 2H9 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 2H9 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 3D7 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 3D7 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 3H1 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 3H1 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 3E7 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 3E7 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 3G4 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 3G4 conforme estabelecido

na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 4B11 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 4B11 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 4E6 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 4E6 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 4F9 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 4F9 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 4G10 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 4G10 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 5E2 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 5E2 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 5G8 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 5G8 conforme estabelecido na Tabela 13. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH que é pelo menos

85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 6B3 conforme estabelecido na Tabela 13 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 6B3 conforme estabelecido na Tabela 13.

[00110] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende as CDRs da cadeia pesada e CDRs da cadeia leve de um dos anticorpos listados na Tabela 13. As CDRs desses anticorpos podem ser encontradas na Tabela 18. Em modalidades relacionadas, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende as CDRs da cadeia pesada e CDRs da cadeia leve de qualquer um dos anticorpos 1C3, 1C8, 1G1, 2E8, 3E7, 4E6, 5G8 ou 6B3, descritos na Tabela 13.

[00111] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência VH humanizada e uma sequência VL humanizada de qualquer um dos anticorpos 1B2, 1C3, 1C8, 1G1, 2A7, 2E8, 2H9, 3D7, 3H1, 3E7, 3G4, 4B11, 4E6, 4F9, 4G10, 5E2, 5G8 ou 6B3. Diversas sequências VH e VL humanizadas exemplificativos são descritas na Tabela 14 e foram usadas na construção de vários construtos de anticorpo 4-1BB compreendendo sequências VH e VL humanizadas com base nas sequências VH e VL de camundongo de anticorpos anti-4-1BB 1C8, 1G1 e 5G8.

[00112] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que compreende uma sequência VH humanizada e uma sequência VL humanizada do anticorpo 1C8. Em uma modalidade relacionada, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28726, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL das variantes 28726. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28727, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28727. Em outra modalidade relacionada, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28728, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL das variantes 28728. Em outra modalidade, o construto de anticorpo

4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28730, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28730.

[00113] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que compreende uma sequência VH humanizada e uma sequência VL humanizada do anticorpo 1G1. Em uma modalidade relacionada, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28683, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL das variantes 28683. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28684, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28684. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28685, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28685. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28686, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28686. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28687, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28687. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28688, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28688. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28689, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28689. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%

ou 99% idêntica à sequência VH de v28690, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28690. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28691, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28691. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28692, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28692. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28693, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28693. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28694, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28694.

[00114] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que compreende uma sequência VH humanizada e uma sequência VL humanizada do anticorpo 5C8. Em uma modalidade relacionada, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28700, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL das variantes 28700. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28704, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28704. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28705, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28705. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28706, e uma sequência VL que é pelo menos 85%,

90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL de 28706. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28711, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28711. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28712, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28712. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28713, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28713. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28696, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28696. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28697, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28697. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28698, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28698. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28701, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28701. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28702, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28702. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28703, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à

sequência VL da variante 28703. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH de v28707, e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL da variante 28707.

[00115] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende as CDRs da cadeia pesada e CDRs da cadeia leve de qualquer um dos anticorpos humanizados v28726, v28727, v28728, v28730, v28700, v28704, v28705, v28706, v28711, v28712, v28713, v28696, v28697, v28698, v28701, v28702, v28703, v28707, v28683, v28684, v28685, v28686, v28687, v28688, v28689, v28690, v28691, v28692, v28694 e v28695. As CDRs desses anticorpos podem ser encontradas na Tabela 18.

[00116] Em outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno TAA, em que o domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime, e o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreende uma, duas ou três CDRs da cadeia pesada e / ou uma, duas ou três CDRs da cadeia leve de v28726, v28727, v28728, v28730, v20022, v28700, v28704, v28705, v28706, v28711, v28712, v28713, v20036, v28696, v28697, v28698, v28701, v28702, v28703, v28707, v20023, v28683, v28684, v28685, v28686, v28687, v28688, v28689, v28690, v28691, v28692, v28694, e v28695.

[00117] Em outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação de 4-1BB que é capaz de se ligar a um ECD de 4-1BB humano e é reativo cruzado cyno. O termo "reativo cruzado cyno", como utilizado neste documento, pretende descrever domínios de ligação que se ligam a um alvo de uma espécie (por exemplo, humano ou camundongo) e também são capazes de se ligar ao mesmo alvo expresso em um macaco cynomolgus. Em algumas modalidades, o construto de anticorpo compreende um domínio de ligação 4-1BB que pode se ligar a um ECD de 4-1BB de camundongo.

TAAs e domínios de ligação ao antígeno TAA

[00118] Os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA aqui descritos compreendem um domínio de ligação 4-1BB que se liga a um domínio extracelular 4-1BB (4-1BB ECD) e um domínio de ligação ao antígeno associado ao tumor (TAA) que se liga a TAA, em que o domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão

ligados direta ou indiretamente a um andaime. Em algumas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um primeiro domínio de ligação ao antígeno TAA e um segundo domínio de ligação ao antígeno TAA ligado direta ou indiretamente a um andaime.

[00119] Como utilizado neste documento, "antígeno associado ao tumor" ou "TAA" refere-se a um antígeno que é expresso por células cancerígenas. Um antígeno associado ao tumor pode ou não ser expresso por células normais (células não tumorais). Quando um TAA não é expresso por células normais (ou seja, quando é exclusivo para células tumorais), também pode ser referido como um "antígeno específico de tumor". Quando um TAA não é exclusivo de uma célula tumoral, também é expresso em uma célula normal sob condições que não induzem um estado de tolerância imunológica ao antígeno. A expressão do antígeno no tumor pode ocorrer em condições que permitem ao sistema imunológico responder ao antígeno. Os TAAs podem ser antígenos que normalmente estão presentes em níveis baixos nas células normais, mas que são expressos em níveis mais elevados nas células tumorais. Os TAAs de maior interesse clínico são expressos diferencialmente em comparação com o tecido normal correspondente e permitem um reconhecimento preferencial de células tumorais por células T específicas ou imunoglobulinas. Em algumas modalidades, os TAAs podem ser antígenos ligados à membrana ou antígenos que estão localizados na superfície de uma célula tumoral.

[00120] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno TAA que se liga a um TAA que é expresso em níveis elevados nas células tumorais. Por exemplo, as células tumorais podem expressar o TAA em mais de cerca de 1 milhão de cópias por célula. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende pelo menos um domínio de ligação ao antígeno TAA que se liga a um TAA que é expresso em níveis médios em células tumorais. Por exemplo, as células tumorais podem expressar o TAA em mais de cerca de 100.000 a cerca de 1 milhão de cópias por célula. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende pelo menos um domínio de ligação ao antígeno TAA que se liga a um TAA que é expresso em níveis baixos nas células tumorais. Por exemplo, as células tumorais podem expressar o TAA em menos de cerca de 100.000 cópias por célula. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA se liga a um TAA que é expresso em níveis mais elevados nas células tumorais do que nas células normais.

[00121] Em algumas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA se liga a um TAA que é expresso em uma célula de câncer de mama, uma célula de câncer de pulmão, uma célula de câncer de ovário, uma célula de câncer de cólon, uma célula de câncer de pele, uma célula de câncer de bexiga, um linfoma ou célula leucêmica, uma célula de câncer de rim, uma célula de câncer pancreático, uma célula de câncer de estômago, uma célula de câncer esofágico, uma célula de câncer de próstata, uma célula de câncer de tireoide ou outra célula de câncer não hepático.

[00122] O construto de anticorpo 4-1BB x TAA pode compreender vários números de domínios de ligação ao antígeno TAA. Por conseguinte, em certas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno TAA, em que o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e os domínios de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime. Em outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende dois domínios de ligação 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno TAA, em que os domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e os domínios de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime. Em ainda outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um ou mais domínios de ligação de 4-1BB e dois domínios de ligação ao antígeno TAA, em que os domínios de ligação de 4-1BB e os domínios de ligação ao antígeno TAA estão ligados diretamente ou indiretamente a um andaime. Em modalidades relacionadas, onde o construto de anticorpo compreende dois ou mais domínios de ligação ao antígeno TAA, cada domínio de ligação ao antígeno TAA pode se ligar ao mesmo epítopo de um TAA, ou a diferentes epítopos do mesmo TAA, ou a diferentes TAAs.

[00123] Os domínios de ligação ao antígeno TAA podem estar nos formatos scFv, Fab ou sdAb. Assim, em uma modalidade, o domínio de ligação ao antígeno TAA do construto de anticorpo 4-1BB x TAA está em um formato Fab. Em modalidades alternativas, o domínio de ligação ao antígeno TAA está em um formato scFv. Em modalidades adicionais, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende mais de um domínio de ligação ao antígeno TAA, em que pelo menos um domínio de ligação ao antígeno TAA está em um formato scFv. Em outras modalidades em que 4-1BB x TAA compreende mais de um domínio de ligação ao antígeno TAA, pelo menos dois dos domínios de ligação ao antígeno estão no formato scFv.

[00124] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA

compreende um domínio de ligação ao antígeno TAA que se liga a um TAA selecionado de, mas não limitado a, anidrase carbônica IX, alfa-fetoproteína (AFP), alfa-actinina-4, A3, antígeno específico para anticorpo A33, ALK (receptor de tirosina quinase anaplásico de linfoma), ART-4, B7, B7-H4, Ba 733, BAGE, BCMA, antígeno BrE3, CA125, CAMEL, CAP-1, CASP-8 / m, CCL19, CCL21, CD1, CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD8, CD11A, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD25, CD29, CD30, CD32b, CD33, CD37, CD38, CD40, CD40L, CD44, CD45, CD46, CD52, CD54, CD55, CD59, CD64, CD66a-e, CD67, CD70, CD70L, CD74, CD79a, CD79b, CD80, CD83, CD95, CD123, CD126, CD132, CD133, CD138, CD147, CD154, CD171, CDC27, CDK-4 / m, CDKN2A, CSF1R, CTLA-4, CXCR4, CXCR7, CXCL12, HIF-1a, antígeno-p específico do cólon (CSAp), CEA, CEACAM5, CEACAM6, c-Met, DAM, DL3, EGFR, EGFRvIII, EGP-1 (TROP-2), EGP-2, ELF2-M, Ep-CAM, EphA2, fator de crescimento de fibroblastos (FGF), Flt-1, Flt -3, receptor de folato, Antígeno G250, GAGE, GD2, gp100, GPC3, GRO-13, HLA-DR, HM1.24, gonadotrofina coriônica humana (HCG) e suas subunidades, HER2 / neu, HMGB-1, fator induzível por hipóxia (HIF-1), HSP70-2M, HST-2, Ia, IGF-1R, IFN-gama, IFN-alfa, IFN-beta, IFN-X, IL-4R, IL-6R, IL-13R, IL13Ralpha2, IL-15R, IL-17R, IL-18R, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-23, IL-25, fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1), antígeno KC4, antígeno KS-1, KS1-4, Le-Y, LDR / FUT, fator de inibição da migração de macrófagos (MIF), MAGE, MAGE-3, MART-1, MART-2, mCRP, MCP-1, glicoproteína de melanoma, mesotelina, MIP-1A, MIP-1B, MIF, MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5ac, MUC13, MUC16, MUM-1/2, MUM-3, NaPi2B, NCA66, NCA95, NCA90, NY-ESO -1, antígeno PAM4, mucina do câncer pancreático, PD-1, receptor PD-1, fator de crescimento placentário, p53, PLAGL2, fosfatase ácida prostática, PSA, PRAME, PSMA, P1GF, ILGF, ILGF-1R, IL-6, IL-25, RS5, RANTES, ROR1, T101, SAGE, 5100, survivina, survivina-2B, TAC, TAG-72, tenascina, TRAG-3, receptores TRAIL, TGFβ, TNF-alfa, antígeno Tn, antígenos de Thomson-Friedenreich, antígenos de necrose tumoral, VEGFR, ED-B fibronectina, WT-1, antígeno 17-1A, fatores de complemento C3, C3a, C3b, C5a, C5, um marcador de angiogênese, bcl-2, bcl-6 Kras, um marcador oncogene e um produto oncogene (ver, por exemplo, Sensi et al., Clin Cancer Res 2006, 12:5023-32; Parmiani et al., J Immunol 2007, 178:1975-79; Novellino et al. Cancer Immunol Immunother 2005, 54:187-207).

[00125] Em uma modalidade, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA aqui

descritos compreendem um domínio de ligação 4-1BB que se liga a um domínio extracelular 4-1BB (4-1BB ECD) e um domínio de ligação ao antígeno TAA que se liga ao receptor de folato (FRα), em que o primeiro domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime. Em uma modalidade, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA aqui descritos compreendem um domínio de ligação 4-1BB que se liga a um domínio extracelular 4-1BB (4-1BB ECD) e um domínio de ligação de antígeno associado a tumor (TAA) que se liga ao Solute Carrier Family 34 Membro 2 (SLC34A2, NaPi2b), em que o primeiro domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime. Em uma modalidade, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA aqui descritos compreendem um domínio de ligação 4-1BB que se liga a um domínio extracelular 4-1BB (4-1BB ECD) e um domínio de ligação ao antígeno associado ao tumor (TAA) que se liga a HER2, em que o primeiro domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime. Em uma modalidade, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA aqui descritos compreendem um domínio de ligação 4-1BB que se liga a um domínio extracelular 4-1BB (4-1BB ECD) e um domínio de ligação de antígeno associado a tumor (TAA) que se liga à mesotelina, em que o primeiro domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime. Em uma modalidade, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA aqui descritos compreendem um domínio de ligação 4-1BB que se liga a um domínio extracelular 4-1BB (4-1BB ECD) e um domínio de ligação de antígeno associado a tumor (TAA) que se liga ao Solute Carrier Family 39 Membro 6 (SLC3A6, LIV-1), em que o primeiro domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime.

[00126] Os domínios de ligação ao antígeno TAA podem ser construídos a partir das sequências de anticorpos conhecidos dirigidos contra TAAs. Muitos desses anticorpos são conhecidos na técnica e podem ser obtidos comercialmente a partir de várias fontes. Por exemplo, uma variedade de linhas de hibridoma secretoras de anticorpos estão disponíveis na American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, Va.) Além disso, vários anticorpos contra vários TAAs foram depositados na ATCC e / ou publicaram sequências de domínio variável e podem ser usados para preparar os domínios de ligação ao antígeno TAA dos construtos de anticorpos. O versado na técnica apreciará que sequências de anticorpos ou hibridomas secretores de anticorpos contra vários TAAs podem ser obtidos

por uma simples pesquisa nas bases de dados ATCC, NCBI e / ou USPTO. Alternativamente, os anticorpos que se ligam especificamente a um TAA desejado podem ser gerados de acordo com métodos conhecidos na técnica e descritos em outro lugar neste documento.

Domínios de ligação ao antígeno FRα

[00127] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA é um construto de anticorpo 4-1BB x FRα compreendendo um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno FRα em que o domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno FRα estão ligados direta ou indiretamente a um andaime.

[00128] FRα é um membro da família do receptor de folato que funciona para se ligar ao ácido fólico e transportar o 5-metiltetra-hidrofolato para as células. FRα também é conhecido como receptor de folato 1, FOLR, FOLR1, FBP ou MOv18 e é expresso em células normais, bem como em células tumorais, como uma proteína secretada que existe na forma solúvel ou está ancorada na membrana das células através de uma ligação glicosil-fosfatidilinositol (GPI). FRα é ainda descrito em Cheung *et al.* (2016) Oncotarget 7:52553-52574. A sequência polipeptídica desta proteína é descrita no No. de Acessão GenBank AAB05827.1 e UniProt P15328, e fornecido aqui como SEQ ID NO: 80.

[00129] Os domínios de ligação ao antígeno FRα podem ser derivados de anticorpos anti-FRα conhecidos na técnica, incluindo, mas não se limitando a: farletuzumabe (Morphotek, descrito em WO2004 / 003388 e WO2005 / 080431), mirvetuximabe (ImmunoGen, descrito em WO2011106528). Outros anticorpos anti-FRα são descritos em US 8.388.972 (Advanced Accelerator Applications), WO2018 / 098277 (Eisai R&D Management Co.), US 9.695.237 (Kyowa Hakko Kirin Co.), WO2015 / 196167 (Bioalliance), WO2016 / 079076 (Roche) e WO2018 / 071597 (Sutro).

[00130] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno FRα que pode competir com farletuzumabe pela ligação a um epítopo de FRα. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno FRα que pode competir com mirvetuximabe pela ligação a um epítopo de FRα. Em ainda outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno FRα que pode competir pela ligação a um epítopo de FRα com qualquer um dos anticorpos anti-FRα descritos em US 8.388.972, WO2018 / 098277, US 9.695.237, WO2015 / 196167, WO2016

/ 079076 ou WO2018 / 071597.

[00131] Em outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno FRα que se liga ao mesmo epítopo de FRα como farletuzumabe ou mirvetuximabe, ou qualquer um dos anticorpos FRα descritos em US 8.388.972, WO2018 / 098277, US 9.695.237, WO2015 / 196167, WO2016 / 079076 ou WO2018 / 071597.

[00132] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno FRα que compreende pelo menos uma, duas ou todas os três CDRs da cadeia pesada e / ou pelo menos uma, duas ou todas as CDRs da cadeia leve de farletuzumabe, mirvetuximabe, ou qualquer um dos anticorpos anti-FRα descritos em US 8.388.972, WO2018 / 098277, US 9.695.237, WO2015 / 196167, WO2016 / 079076 ou WO2018 / 071597. Em uma modalidade alternativa, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno FRα que compreende pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs de cadeia pesada e pelo menos um, dois ou todos os três CDRs de cadeia leve de farletuzumabe, mirvetuximabe, ou qualquer um dos anticorpos anti-FRα descritos em US 8.388.972, WO2018 / 098277, US 9.695.237, WO2015 / 196167, WO2016 / 079076 ou WO2018 / 071597. Em outras modalidades, o construto 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno FRα compreendendo uma sequência VH que é pelo menos cerca de 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, ou 100% idêntica à sequência VH de farletuzumabe, mirvetuximabe ou qualquer um dos anticorpos anti-FRα descritos em US 8.388.972, WO2018 / 098277, US 9.695.237, WO2015 / 196167, WO2016 / 079076 ou WO2018 / 071597. As sequências específicas das CDRs para mirvetuximabe e farletuzumabe são descritas na Tabela C e as sequências VH e VL destes anticorpos são fornecidas na Tabela 17; os outros podem ser facilmente determinados por um versado na técnica com referência às divulgações de US 8.388.972, WO2018 / 098277, US 9.695.237, WO2015 / 196167, WO2016 / 079076 ou WO2018 / 071597.

Tabela C: sequências de CDR de anticorpos anti-FRα exemplificativos

	Definição	**CDR1**	**CDR2**	**CDR3**
Mirvetuximabe				
Cadei	Kabat	GYFMN	RIHPYDGDTFYNQKF	YDGSRAMDY

a pesada		(SEQ ID NO:372)	QG (SEQ ID NO:373)	(SEQ ID NO:374)
	Chothia	GYTFTGY (SEQ ID NO:375)	HPYDGD (SEQ ID NO:376)	YDGSRAMDY (SEQ ID NO:374)
	IMGT	GYTFTGYF (SEQ ID NO:377)	IHPYDGDT (SEQ ID NO:378)	TRYDGSRAMDY (SEQ ID NO:379)
	AbM	GYTFTGYFMN (SEQ ID NO:380)	RIHPYDGDTF (SEQ ID NO:381)	YDGSRAMDY (SEQ ID NO:374)
Cadeia leve	Kabat	KASQSVSFAGTSLMH (SEQ ID NO:382)	RASNLEA (SEQ ID NO:383)	QQSREYPYT (SEQ ID NO:384)
	Chothia	KASQSVSFAGTSLMH (SEQ ID NO:382)	RASNLEA (SEQ ID NO:383)	QQSREYPYT (SEQ ID NO:384)
	IMGT	QSVSFAGTSL (SEQ ID NO:385)	RAS	QQSREYPYT (SEQ ID NO:384)
	AbM	KASQSVSFAGTSLMH (SEQ ID NO:382)	RASNLEA (SEQ ID NO:383)	QQSREYPYT (SEQ ID NO:384)
Farletuzumabe				
Cadeia pesada	Kabat	GYGLS (SEQ ID NO:386)	MISSGGSYTYYADSVKG (SEQ ID NO:387)	HGDDPAWFAY (SEQ ID NO:388)
	Chothia	GFTFSGY (SEQ ID NO:389)	SSGGSY (SEQ ID NO:390)	HGDDPAWFAY (SEQ ID NO:388)
	IMGT	GFTFSGYG (SEQ ID NO:391)	ISSGGSYT (SEQ ID NO:392)	ARHGDDPAWFAY (SEQ ID NO:393)
	AbM	GFTFSGYGLS (SEQ ID NO:394)	MISSGGSYTY (SEQ ID NO:395)	HGDDPAWFAY (SEQ ID NO:388)
Cadei	Kabat	SVSSSISSNNLH	GTSNLAS	QQWSSYPYMY

a leve		(SEQ ID NO:396)	(SEQ ID NO:397)	T (SEQ ID NO:398)
	Chothia	SVSSSISSNNLH (SEQ ID NO:396)	GTSNLAS (SEQ ID NO:397)	QQWSSYPYMY T (SEQ ID NO:398)
	IMGT	SSISSNN (SEQ ID NO:399)	GTS	QQWSSYPYMY T (SEQ ID NO:398)
	AbM	SVSSSISSNNLH (SEQ ID NO:396)	GTSNLAS (SEQ ID NO:397)	QQWSSYPYMY T (SEQ ID NO:398)

[00133] Alternativamente, os domínios de ligação ao antígeno FRα podem ser derivados de novos anticorpos que são gerados de acordo com métodos conhecidos na técnica.

[00134] As sequências VH e VL do anticorpo anti-FRα adicionais são fornecidas na Tabela 17. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x FRα compreende um domínio de ligação ao antígeno FRα tendo uma sequência VH que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VH do anticorpo 8K22 ou 1H06 e uma sequência VL que é pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência VL do anticorpo 8K22 ou 1H06. As CDRs desses anticorpos são fornecidos na Tabela 18. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende as CDRs da cadeia pesada e as CDRs da cadeia leve do anticorpo 8K22 ou 1H06.

[00135] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x FRα compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo as CDRs de qualquer um dos anticorpos humanizados v28726, v28727, v28728, v28730, v28700, v28704, v28705, v28706, v28711, v28712, v28713, v28696, v28697, v28698, v28701, v28702, v28703, v28707, v28683, v28684, v28685, v28686, v28687, v28688, v28689, v28690, v28691, v28692, v28694, e v28695 e um domínio de ligação ao antígeno FRα ligado a andaime. Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x FRα compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo as CDRs de qualquer um dos

anticorpos humanizados v28726, v28727, v28728, v28730, v28700, v28704, v28705, v28706, v28711, v28712, v28713, v28696, v28697, v28698, v28701, v28702, v28703, v28707, v28683, v28684, v28685, v28686, v28687, v28688, v28689, v28690, v28691, v28692, v28694, e v28695 e FRα domínio de ligação ao antígeno compreendendo as CDRs de 8K22 ou 1H06.

Domínios de ligação ao antígeno SLC34A2 / NaPi2b

[00136] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA é um construto de anticorpo 4-1BB x NaPi2b compreendendo um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno NaPi2b em que o domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno NaPi2b estão ligados direta ou indiretamente a um andaime.

[00137] SLC34A2 é um transportador de fosfato dependente de sódio sensível ao pH. Também conhecida como NaPi2b, bem como NAPI-3B, NAPI-IIb, NPTIIb, esta proteína é expressa em algumas células epiteliais normais no pulmão, intestino e glândula mamária e tem uma função no transporte de íons fosfato. NaPi2b é encontrado altamente expresso em células tumorais, principalmente em cânceres de pulmão e ovário (Lin K et al, Clin Cancer Res. 2015 Nov 15;21(22):5139-50). NaPi2b é uma proteína de membrana multispan, com domínios extracelulares de 14, 129, 57 e 6 aminoácidos. A sequência polipeptídica desta proteína é descrita em NCBI Reference Sequence: NP_001171470.1 e UniProt O95436, e fornecida aqui como SEQ ID NO: 81.

[00138] Os domínios de ligação ao antígeno NaPi2b podem ser derivados de anticorpos conhecidos na técnica, incluindo, mas não se limitando a: lifastuzumabe (Genentech, Seattle Genetics, descrito em WO2011 / 066503), MX-35 (Ludwig Institute, descrito em WO2009 / 097128), e os anticorpos descritos por Mersana Therapeutics em US2017 / 0266311. Alternativamente, os domínios de ligação ao antígeno NaPi2b podem ser derivados de novos anticorpos que são gerados de acordo com métodos conhecidos na técnica e descritos em outro lugar neste documento.

[00139] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno NaPi2b que pode competir com o lifastuzumabe pela ligação a um epítopo de NaPi2b. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno NaPi2b que pode competir com MX-35 pela ligação a um epítopo de NaPi2b. Em ainda outras modalidades,

o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno NaPi2b que pode competir pela ligação a um epítopo de NaPi2b com qualquer um dos anticorpos anti-NaPi2b descritos em WO2011 / 066503, WO2009 / 097128, ou US2017 / 0266311.

[00140] Em outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno NaPi2b que se liga ao mesmo epítopo de NaPi2b como lifastuzumabe ou MX-35, ou qualquer um dos anticorpos anti-NaPi2b descritos em WO2011 / 066503, WO2009 / 097128 ou US2017 / 0266311.

[00141] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno NaPi2b que compreende pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia pesada e / ou pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia leve de lifastuzumabe ou MX-35, ou qualquer um dos anticorpos anti-NaPi2b descritos em WO2011 / 066503, WO2009 / 097128 ou US2017 / 0266311. Em uma modalidade alternativa, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno NaPi2b que compreende pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia pesada e pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia leve de lifastuzumabe ou MX-35, ou qualquer um dos anticorpos anti-NaPi2b descritos em WO2011 / 066503, WO2009 / 097128 ou US2017 / 0266311. Em outras modalidades, o construto 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno NaPi2b compreendendo uma sequência VH que é pelo menos cerca de 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, ou 100% idêntica à sequência VH de lifastuzumabe ou MX-35, ou qualquer um dos anticorpos anti-NaPi2b descritos em WO2011 / 066503, WO2009 / 097128 ou US2017 / 0266311. As sequências específicas das CDRs de anticorpos anti-NaPi2b exemplificativas são descritas na Tabela D; as sequências VH e VL desses anticorpos são encontradas na Tabela 17. Outras sequências de anticorpo anti-NaPi2b podem ser prontamente determinadas por um versado na técnica com referência às divulgações de WO2011 / 066503, WO2009 / 097128 ou US2017 / 0266311.

Tabela D: sequências de CDR de anticorpos anti-NaPi2b exemplificativas

	Definição	**CDR1**	**CDR2**	**CDR3**
Lifastuzumabe				
Cadei	Kabat	DFAMS	TIGRVAFHTYYPDS	HRGFDVGHFDF

a pesada		(SEQ ID NO:400)	MKG (SEQ ID NO:401)	(SEQ ID NO:402)
	Chothia	GFSFSDF (SEQ ID NO:403)	GRVAFH (SEQ ID NO:404)	HRGFDVGHFDF (SEQ ID NO:402)
	IMGT	GFSFSDFA (SEQ ID NO:405)	IGRVAFHT (SEQ ID NO:406)	ARHRGFDVGHFDF (SEQ ID NO:407)
	AbM	GFSFSDFAMS (SEQ ID NO:408)	TIGRVAFHTY (SEQ ID NO:409)	HRGFDVGHFDF (SEQ ID NO:402)
Cadeia leve	Kabat	RSSETLVHSSGNTYLE (SEQ ID NO:410)	RVSNRFS (SEQ ID NO:411)	FQGSFNPLT (SEQ ID NO:412)
	Chothia	RSSETLVHSSGNTYLE (SEQ ID NO:410)	RVSNRFS (SEQ ID NO:411)	FQGSFNPLT (SEQ ID NO:412)
	IMGT	ETLVHSSGNTY (SEQ ID NO:468)	RVS	FQGSFNPLT (SEQ ID NO:412)
	AbM	RSSETLVHSSGNTYLE (SEQ ID NO:410)	RVSNRFS (SEQ ID NO:411)	FQGSFNPLT (SEQ ID NO:412)
MX-35				
Cadeia pesada	Kabat	GYNIH (SEQ ID NO:413)	AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO:414)	GETARATFAY (SEQ ID NO:415)
	Chothia	GYTFTGY (SEQ ID NO:416)	YPGNGD (SEQ ID NO:417)	GETARATFAY (SEQ ID NO:415)
	IMGT	GYTFTGYN (SEQ ID NO:418)	IYPGNGDT (SEQ ID NO:419)	ARGETARATFAY (SEQ ID NO:420)
	AbM	GYTFTGYNIH (SEQ ID NO:421)	AIYPGNGDTS (SEQ ID NO:422)	GETARATFAY (SEQ ID NO:415)
Cadei	Kabat	SASQDIGNFLN	YTSSLYS	QQYSKLPLT

a leve		(SEQ ID NO:423)	(SEQ ID NO:424)	(SEQ ID NO:425)
	Chothia	SASQDIGNFLN (SEQ ID NO:423)	YTSSLYS (SEQ ID NO:424)	QQYSKLPLT (SEQ ID NO:425)
	IMGT	QDIGNF (SEQ ID NO:469)	YTS	QQYSKLPLT (SEQ ID NO:425)
	AbM	SASQDIGNFLN (SEQ ID NO:423)	YTSSLYS (SEQ ID NO:424)	QQYSKLPLT (SEQ ID NO:425)

[00142] Alternativamente, os domínios de ligação ao antígeno NaPi2b podem ser derivados de novos anticorpos que são gerados de acordo com métodos conhecidos na técnica.

Domínios de ligação ao antígeno HER2

[00143] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA é um construto de anticorpo 4-1BB x HER2 compreendendo um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno HER2 em que o domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno HER2 estão ligados direta ou indiretamente a um andaime.

[00144] HER2 (também conhecido como ErbB2) é uma proteína tirosina quinase receptora que pertence à família do receptor do fator de crescimento epidérmico humano (HER) que inclui os receptores EGFR, HER2, HER3 e HER4. O domínio extracelular (ecto) de HER2 compreende quatro domínios, Domínio I (ECD1, resíduos de aminoácidos de cerca de 1-195), Domínio II (ECD2, resíduos de aminoácidos de cerca de 196-319), Domínio III (ECD3, resíduos de aminoácidos de cerca de 320-488), e Domínio IV (ECD4, resíduos de aminoácidos de cerca de 489-630) (numeração de resíduos sem peptídeo sinal). Ver Garrett et al. *Mol. Cell.* 11: 495-505 (2003), Cho et al. *Nature* 421: 756-760 (2003), Franklin et al. *Cancer Cell* 5:317-328 (2004), Tse *et al*. Cancer Treat Rev. 2012 Apr;38(2):133-42 (2012), ou Plowman et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90:1746-1750 (1993). A sequência polipeptídica de HER2 é descrita em UniProt P04626 e incluída aqui como SEQ ID NO:82.

[00145] Os domínios de ligação ao antígeno HER2 podem ser derivados de anticorpos conhecidos na técnica, incluindo, mas não se limitando a: trastuzumabe (Genentech, descrito por exemplo em US 5.821.337 e US 6.528.624) ou pertuzumabe (Genentech, US 7.862.217). O Therapeutic Antibodies Database (Tabs, hospedado por Craic

Computing LLC, tabs.craic.com) identifica muitos anticorpos anti-HER2 adicionais que fornecem sequências adequadas para preparar os domínios de ligação ao antígeno anti-HER2 do construto de anticorpo 4-1BB x TAA.

[00146] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno HER2 que pode competir com trastuzumabe pela ligação a um epítopo de HER2. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno HER2 que pode competir com pertuzumabe pela ligação a um epítopo de HER2. Em ainda outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno HER2 que pode competir pela ligação a um epítopo de HER2 com qualquer um dos anticorpos anti-HER2 descritos em US 5.821.337, US 6.528.624 ou US 7.862.217.

[00147] Em outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno HER2 que se liga ao mesmo epítopo de HER2 como trastuzumabe ou pertuzumabe, ou qualquer um dos anticorpos anti-HER2 descritos em US 5.821.337, US 6.528.624 ou US 7.862.217.

[00148] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno HER2 que compreende pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia pesada e / ou pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia leve de trastuzumabe ou pertuzumabe ou margetuximabe, ou qualquer um dos anticorpos anti-HER2 descritos em US 5.821.337, US 6.528.624 ou US 7.862.217. Em uma modalidade alternativa, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno HER2 que compreende pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia pesada e pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia leve de trastuzumabe ou pertuzumabe ou margetuximabe, ou qualquer um dos anticorpos anti-HER2 descritos em US 5.821.337, US 6.528.624 ou US 7.862.217. Em outras modalidades, o construto 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno HER2 compreendendo uma sequência VH que é pelo menos cerca de 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, ou 100% idêntica à sequência VH de trastuzumabe ou pertuzumabe ou margetuximabe, ou qualquer um dos anticorpos anti-HER2 descritos em US 5.821.337, US 6.528.624 ou US 7.862.217. As sequências específicas das CDRs de anticorpos anti-HER2 exemplificativas são descritas na Tabela E; as sequências VH e VL desses anticorpos são encontradas na Tabela 17. Outras sequências de anticorpo anti-HER2 podem ser

prontamente determinadas por um versado na técnica com referência pelo menos às divulgações de WO2011 / 066503, WO2009 / 097128 ou US2017 / 0266311.

Tabela E: sequências de CDR de anticorpos anti-HER2 exemplificativos

	Definição	**CDR1**	**CDR2**	**CDR3**
trastuzumabe				
Cadeia pesada	Kabat	DTYIH (SEQ ID NO:426)	RIYPTNGYTRYADSVKG (SEQ ID NO:427)	WGGDGFYAMDY (SEQ ID NO:428)
	Chothia	GFNIKDT (SEQ ID NO:429)	YPTNGY (SEQ ID NO:430)	WGGDGFYAMDY (SEQ ID NO:428)
	IMGT	GFNIKDTY (SEQ ID NO:431)	IYPTNGYT (SEQ ID NO:432)	SRWGGDGFYAMDY (SEQ ID NO:433)
	AbM	GFNIKDTYIH (SEQ ID NO:434)	RIYPTNGYTR (SEQ ID NO:435)	WGGDGFYAMDY (SEQ ID NO:428)
Cadeia leve	Kabat	RASQDVNTAVA (SEQ ID NO:436)	SASFLYS (SEQ ID NO:437)	QQHYTTPPT (SEQ ID NO:438)
	Chothia	RASQDVNTAVA (SEQ ID NO:436)	SASFLYS (SEQ ID NO:437)	QQHYTTPPT (SEQ ID NO:438)
	IMGT	QDVNTA (SEQ ID NO:439)	SAS	QQHYTTPPT (SEQ ID NO:438)
	AbM	RASQDVNTAVA (SEQ ID	SASFLYS (SEQ ID NO:437)	QQHYTTPPT (SEQ ID NO:438)

		NO:436)		
pertuzumabe				
Cadeia pesada	Kabat	DYTMD (SEQ ID NO:440)	DVNPNSGGSIYNQRFKG (SEQ ID NO:441)	NLGPSFYFDY (SEQ ID NO:442)
	Chothia	GFTFTDY (SEQ ID NO:443)	NPNSGG (SEQ ID NO:444)	NLGPSFYFDY (SEQ ID NO:442)
	IMGT	GFTFTDYT (SEQ ID NO:445)	VNPNSGGS (SEQ ID NO:446)	ARNLGPSFYFDY (SEQ ID NO:447)
	AbM	GFTFTDYTMD (SEQ ID NO:448)	DVNPNSGGSI (SEQ ID NO:449)	NLGPSFYFDY (SEQ ID NO:442)
Cadeia leve	Kabat	KASQDVSIGVA (SEQ ID NO:450)	SASYRYT (SEQ ID NO:451)	QQYYIYPYT (SEQ ID NO:452)
	Chothia	KASQDVSIGVA (SEQ ID NO:450)	SASYRYT (SEQ ID NO:451)	QQYYIYPYT (SEQ ID NO:452)
	IMGT	QDVSIG (SEQ ID NO:453)	SAS	QQYYIYPYT (SEQ ID NO:452)
	AbM	KASQDVSIGVA (SEQ ID NO:450)	SASYRYT (SEQ ID NO:451)	QQYYIYPYT (SEQ ID NO:452)

[00149] Alternativamente, os domínios de ligação ao antígeno HER2 podem ser derivados de novos anticorpos que são gerados de acordo com métodos conhecidos na

técnica.

Domínios de ligação ao antígeno SLC39A6 / LIV-1

[00150] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA é um construto de anticorpo 4-1BB x LIV-1 compreendendo um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno LIV-1 em que o domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno LIV-1 estão ligados direta ou indiretamente a um andaime.

[00151] SLC39A6, também conhecido como LIV-1 ou ZIP6, pertence a uma família de proteínas que funcionam como transportadores de zinco. É expresso em níveis baixos em células normais em todo o corpo, mas é expresso em níveis elevados em algumas células tumorais, particularmente cânceres de mama (Takatani-Nakase *et al.*, (2016) Biomed Res Clin Prac 1:71-75). A sequência polipeptídica de LIV-1 é descrita no Número de Acessão UniProt Q13433 e incluída aqui como SEQ ID NO: 83.

[00152] Os domínios de ligação ao antígeno LIV-1 podem ser derivados de anticorpos conhecidos na técnica, incluindo, mas não se limitando aos descritos em WO 2012/078688 (Seattle Genetics), WO 2004/067564 (Abbvie) e WO 2001/055178 (Genentech). Outros anticorpos que se ligam a LIV-1 são descritos em US2008 / 0175839.

[00153] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno LIV-1 que pode competir pela ligação a um epítopo de LIV-1 com qualquer um dos anticorpos descritos em WO 2012/078688, WO 2004/067564, WO 2001/055178 ou US2008 / 0175839. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um LIV-1 que pode competir pela ligação a um epítopo de LIV-1 com qualquer um dos anticorpos anti-LIV-1 descritos em WO 2012/078688, WO 2004 / 067564, WO 2001/055178 ou US2008 / 0175839.

[00154] Em outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno LIV-1 que se liga ao mesmo epítopo de LIV-1 que qualquer um dos anticorpos anti-LIV-1 descritos em WO 2012/078688, WO 2004/067564, WO 2001/055178 ou US2008 / 0175839.

[00155] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno LIV-1 que compreende pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia pesada e / ou pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia leve de qualquer um dos anticorpos anti-LIV-1 descritos em WO 2012/078688, WO 2004/067564, WO 2001/055178 ou US2008 / 0175839. Em uma

modalidade alternativa, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno LIV-1 que compreende pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia pesada e pelo menos uma, duas ou todas as três CDRs da cadeia leve de qualquer um dos anticorpos anti-LIV-1 descritos em WO 2012/078688, WO 2004/067564, WO 2001/055178 ou US2008 / 0175839. Em outras modalidades, o construto 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno LIV-1 compreendendo uma sequência VH que é pelo menos cerca de 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência VH de qualquer um dos anticorpos anti-LIV-1 descritos em WO 2012/078688, WO 2004/067564, WO 2001/055178 ou US2008 / 0175839. As sequências específicas das CDRs, VHs e VLs para anticorpos anti-LIV-1 exemplificativas são descritas nas divulgações de WO2011 / 066503, WO2009 / 097128 ou US2017 / 0266311.

[00156] Alternativamente, os domínios de ligação ao antígeno LIV-1 podem ser derivados de novos anticorpos que são gerados de acordo com métodos conhecidos na técnica e descritos em outro lugar neste documento.

Domínios de ligação ao antígeno da mesotelina (MSLN)

[00157] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA é um construto de anticorpo 4-1BB x MSLN compreendendo um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno MSLN em que o domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno MSLN estão ligados direta ou indiretamente a um andaime.

[00158] A mesotelina (MSLN), também conhecida como antígeno CAK ou fator de potenciação pré-pró-megacariócito, é expressa em células mesoteliais pulmonares normais e em níveis baixos em outros órgãos normais. A mesotelina é expressa em altos níveis nos cânceres de ovário e de pulmão. A sequência polipeptídica de mesotelina é descrita em Número de Acessão UniProt Q13421 e incluída aqui como SEQ ID NO: 84.

[00159] Os domínios de ligação ao antígeno MSLN podem ser derivados de anticorpos anti-MSLN conhecidos na técnica, incluindo, mas não se limitando a: anetumabe (Bayer, descrito em WO2009 / 068204), 6A4 / BMS-986148 (BMS, descrito em WO2009 / 045957), ou o anticorpo anti-MSLN Mab Designs descrito em WO2018 / 060480.

[00160] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno MSLN que compete pela ligação com anetumabe para ligação ao MSLN. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno MSLN que compete pela ligação com

6A4 / BMS-986148 pela ligação ao MSLN. Em ainda outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno MSLN que compete pela ligação com o anticorpo anti-MSLN do Mab Designs pela ligação ao MSLN.

[00161] Em algumas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno MSLN que se liga ao mesmo epítopo que anetumabe para ligação a MSLN. Em outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno MSLN que se liga ao mesmo epítopo que 6A4 / BMS-986148 para ligação a MSLN. Em ainda outra modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno MSLN que se liga ao mesmo epítopo que o anticorpo anti-MSLN Mab Designs para ligação a MSLN.

[00162] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno MSLN que compreende pelo menos uma, duas, ou todas as três CDRs da cadeia pesada e / ou pelo menos uma, duas, ou todas as três CDRs da cadeia leve de qualquer um dos anticorpos anti-MSLN descritos em WO2009 / 068204, WO2009 / 045957 ou WO2018 / 060480. Em uma modalidade alternativa, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno MSLN que compreende pelo menos uma, duas, ou todas as três CDRs da cadeia pesada e pelo menos uma, duas, ou todas as três CDRs da cadeia leve de qualquer um dos anticorpos anti-MSLN descritos em WO2009 / 068204, WO2009 / 045957 ou WO2018 / 060480. Em outras modalidades, o construto 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno MSLN compreendendo uma sequência VH que é pelo menos cerca de 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, ou 100% idêntica à sequência VH de qualquer um dos anticorpos anti-MSLN descritos em WO2009 / 068204, WO2009 / 045957 ou WO2018 / 060480. As sequências específicas das CDRs de anticorpos anti-MSLN exemplificativas são descritas na Tabela F; as sequências VH e VL desses anticorpos são encontradas na Tabela 17. Outras sequências de anticorpos anti-MSLN podem ser prontamente determinadas por um versado na técnica com referência às divulgações de WO2009 / 068204, WO2009 / 045957 ou WO2018 / 060480.

Tabela F: sequências de CDR de um anticorpo anti-MSLN exemplificativas RG7787

	Definição	**CDR1**	**CDR2**	**CDR3**

Cadeia pesada	Kabat	GYTMN (SEQ ID NO:454)	LITPYNGASSYNQKFRG (SEQ ID NO:455)	GGYDGRGFDY (SEQ ID NO:456)
	Chothia	GYSFTGY (SEQ ID NO:457)	TPYNGA (SEQ ID NO:458)	GGYDGRGFDY (SEQ ID NO:456)
	IMGT	GYSFTGYT (SEQ ID NO:459)	ITPYNGAS (SEQ ID NO:460)	ARGGYDGRGFDY (SEQ ID NO:461)
	AbM	GYSFTGYTMN (SEQ ID NO:462)	LITPYNGASS (SEQ ID NO:463)	GGYDGRGFDY (SEQ ID NO:456)
Cadeia leve	Kabat	SASSSVSYMH (SEQ ID NO:464)	DTSKLAS (SEQ ID NO:465)	QQWSKHPLT (SEQ ID NO:466)
	Chothia	SASSSVSYMH (SEQ ID NO:464)	DTSKLAS (SEQ ID NO:465)	QQWSKHPLT (SEQ ID NO:466)
	IMGT	SSVSY (SEQ ID NO:467)	DTS	QQWSKHPLT (SEQ ID NO:466)
	AbM	SASSSVSYMH (SEQ ID NO:464)	DTSKLAS (SEQ ID NO:465)	QQWSKHPLT (SEQ ID NO:466)

Andaimes

[00163] Conforme descrito neste documento, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação 4-1BB que se liga a um 4-1BB ECD e um domínio de ligação ao antígeno TAA, em que o primeiro domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime. A

ligação direta do domínio de ligação 4-1BB e do domínio de ligação ao antígeno TAA resulta quando cada um desses domínios está diretamente ligado ao suporte, sem ligantes. Assim, em uma modalidade, o domínio de ligação 4-1BB está ligado ao andaime sem um ligante e o domínio de ligação ao antígeno TAA também está ligado ao andaime sem um ligante. Os métodos de realização da ligação direta são conhecidos na técnica e incluem metodologia de DNA recombinante e / ou conjugação química, por exemplo.

[00164] A ligação indireta pode ser alcançada usando um ligante para ligar um ou ambos o domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA ao andaime. Por conseguinte, em uma modalidade, o domínio de ligação 4-1BB está ligado ao andaime com um ligante e o domínio de ligação ao antígeno TAA também está ligado ao andaime com um ligante. Em outras modalidades, um do domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA está ligado ao andaime com um ligante e o outro está diretamente ligado ao andaime sem um ligante. Em ainda outras modalidades, o domínio de ligação 4-1BB está ligado ao andaime com um ligante e o domínio de ligação ao antígeno TAA está ligado ao domínio de ligação 4-1BB com um ligante. Na última modalidade, o domínio de ligação ao antígeno TAA é considerado indiretamente ligado ao suporte. Em uma modalidade alternativa, o domínio de ligação ao antígeno TAA está ligado ao andaime com um ligante, e o domínio de ligação 4-1BB está ligado ao domínio de ligação ao antígeno TAA com um ligante. Na última modalidade, o domínio de ligação 4-1BB é considerado indiretamente ligado ao andaime.

Ligantes e polipeptídeos ligantes

[00165] Como indicado acima, em algumas modalidades, a ligação indireta dos domínios de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA ao andaime é realizada pelo uso de ligantes. O ligante pode ser um peptídeo ligante, um polipeptídeo ligante ou um ligante não polipeptídico. Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo aqui descritos incluem um domínio de ligação 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno TAA que estão cada um operativamente ligados a um polipeptídeo ligante, em que os polipeptídeos ligantes são capazes de formar um complexo ou interface entre si. Em algumas modalidades, os polipeptídeos ligantes são capazes de formar uma ligação covalente entre si. A conformação espacial dos construtos com os polipeptídeos ligantes é semelhante à conformação espacial relativa dos parátopos de um fragmento F(ab')2 gerado pela digestão com papaína, embora no contexto de um construto de anticorpo com dois domínios de

ligação ao antígeno.

[00166] Em uma modalidade, os polipeptídeos ligantes são selecionados de regiões de dobradiça IgG1, IgG2, IgG3 ou IgG4.

[00167] Em algumas modalidades, os polipeptídeos ligantes são selecionados de modo que mantenham a conformação espacial relativa dos parátopos de um fragmento F(ab') e são capazes de formar uma ligação covalente equivalente à ligação dissulfeto na dobradiça de núcleo de IgG. Os polipeptídeos de ligação adequados incluem regiões de dobradiça de IgG, tais como, por exemplo, aquelas de IgG1, IgG2 ou IgG4. Versões modificadas desses ligantes exemplificativos também podem ser usadas. Por exemplo, modificações para melhorar a estabilidade da dobradiça de IgG4 são conhecidas na técnica (ver por exemplo, Labrijn et al. (2009) Nature Biotechnology 27, 767 – 771).

[00168] Uma série de andaimes adequados são conhecidas na técnica, incluindo peptídeos, polipeptídeos, polímeros, nanopartículas ou outras entidades químicas. Em uma modalidade, o andaime é um construto Fc. Uma série de andaimes baseados em proteínas alternativas ou domínios moleculares são conhecidos na técnica e podem ser usados para formar pares seletivos de dois polipeptídeos de ligação ao alvo diferentes. Exemplos de tais domínios alternativos incluem os andaimes de coesina-dockerina descritos na Publicação de Patente Internacional WO2008 / 097817 e os andaimes de albumina divididos descritos em WO 2012/116453 e WO 2014/012082. Um outro exemplo são os domínios do zíper de leucina, como Fos e Jun, que emparelham seletivamente [S A Kostelny *et al.* J Immunol 1992 148:1547-53; Bernd J. Wranik, *et al.* J. Biol. Chem. 2012 287: 43331-43339]. Como alternativa, outros pares moleculares de emparelhamento seletivo, como o par barnase barstar [Deyev, *et al.* (2003). Nat Biotechnol 21, 1486-1492], ou pares de proteínas fluorescentes divididas [WO 2011135040] também podem ser empregados.

[00169] Em outras modalidades, os polipeptídeos ligantes são operativamente ligados a suportes diferentes de um Fc. Uma série de andaimes baseados em proteínas alternativas ou domínios moleculares são conhecidos na técnica e podem ser usados para formar pares seletivos de dois polipeptídeos de ligação ao alvo diferentes. Exemplos de tais domínios alternativos são os suportes de albumina divididos descritos em WO 2012/116453 e WO 2014/012082. Um outro exemplo são os domínios de zíper de leucina, como Fos e Jun, que emparelham seletivamente [S A Kostelny, MS Cole e JY Tso. Formação de um anticorpo biespecífico pelo uso de zíperes de leucina. J Immunol 1992 148:1547-53; Bernd

J. Wranik, Erin L. Christensen, Gabriele Schaefer, Janet K. Jackman, Andrew C. Vendel, and Dan Eaton. LUZ-Y, a Novel Platform for the Mammalian Cell Production of Full-length IgG-bispecific Antibodies J. Biol. Chem. 2012 287: 43331-43339]. Alternativamente, outros pares moleculares de emparelhamento seletivo, tais como o par barstar barnase [Deyev, S. M., Waibel, R., Lebedenko, E. N., Schubiger, A. P., and Plückthun, A. (2003). Design of multivalent complexes using the barnase*barstar module. Nat Biotechnol 21, 1486-1492], DNA strand pairs [Zahida N. Chaudri, Michael Bartlet-Jones, George Panayotou, Thomas Klonisch, Ivan M. Roitt, Torben Lund, Peter J. Delves, Dual specificity antibodies using a double-stranded oligonucleotide bridge, FEBS Letters, Volume 450, Issues 1–2, 30 April 1999, Pages 23-26], split fluorescent protein pairs [Ulrich Brinkmann, Alexander Haas. Fluorescent antibody fusion protein, its production and use, WO 2011135040 A1] também podem ser empregados.

[00170] Em modalidades em que o andaime é um peptídeo ou polipeptídeo, o domínio de ligação 4-1BB e / ou o domínio de ligação ao antígeno TAA do construto de anticorpo pode ser ligado direta ou indiretamente ao andaime por fusão genética. Em outras modalidades, onde o andaime é um polímero ou nanopartícula, o domínio de ligação de 4-1BB e / ou o domínio de ligação ao antígeno TAA do construto de anticorpo pode ser ligado ao andaime por conjugação química.

[00171] Em uma modalidade, o construto de anticorpo aqui descrito compreende um domínio de ligação 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno associado ao tumor (TAA), em que o primeiro domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados diretamente ou indiretamente a um construto Fc.

[00172] O termo "Fc" ou "construto Fc", como utilizado neste documento, refere-se a uma região C-terminal de uma cadeia pesada de imunoglobulina que contém pelo menos uma porção da região constante (também referida como um "domínio Fc" ou "região Fc"), incluindo o domínio CH3. O termo inclui regiões Fc de sequência nativa e regiões Fc variantes. A menos que especificado de outra forma neste documento, a numeração dos resíduos de aminoácidos na região Fc ou região constante está de acordo com o sistema de numeração EU, também denominado o índice EU em Edelman, G.M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969).

[00173] Um "construto Fc dimérico" compreende dois polipeptídeos Fc. Um "polipeptídeo Fc" de um construto Fc dimérico se refere a um dos dois polipeptídeos que

formam o construto, *isto é*, um polipeptídeo compreendendo regiões constantes C-terminais de uma cadeia pesada de imunoglobulina que é capaz de autoassociação estável. Os polipeptídeos Fc são derivados de isótipos da cadeia pesada, incluindo IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. Os polipeptídeos Fc também podem ser derivados dos subtipos de cadeia pesada IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 ou IgA2. Em algumas modalidades, o construto Fc é um construto Fc humano. Em algumas modalidades, o construto Fc é um construto IgG Fc humano. Em outras modalidades, o construto Fc é um construto IgG1 Fc humano.

[00174] Cada polipeptídeo Fc compreende uma sequência CH3 e pode opcionalmente compreender uma sequência CH2. Em algumas modalidades, cada polipeptídeo Fc compreende uma sequência CH3 com uma ou mais modificações de aminoácidos. Em algumas modalidades, cada polipeptídeo Fc compreende uma sequência CH2 que compreende uma ou mais modificações de aminoácidos. Em algumas modalidades, um construto Fc é composto por um único polipeptídeo, por exemplo, onde os polipeptídeos Fc estão ligados por um ligante. Em outras modalidades, o construto Fc é um construto Fc heterodimérico, em que os polipeptídeos Fc que constituem o construto Fc têm diferentes sequências de CH3 ou CH2.

Modificações de sequência CH3

[00175] Em certas modalidades, o andaime é um construto Fc heterodimérico compreendendo modificações de sequência CH3 que promovem a formação de um construto Fc heterodimérico em comparação com um Fc homodimérico, conforme descrito no Pedido de Patente Internacional PCT / CA2011 / 001238 ou Pedido de Patente Internacional PCT / CA2012 / 050780, a divulgação completa de cada uma das quais é incorporada por meio deste por referência em sua totalidade para todos os fins.

[00176] A Tabela G fornece a sequência de aminoácidos da sequência Fc de IgG1 humana, correspondendo aos aminoácidos 231 a 447 da cadeia pesada de IgG1 humana de comprimento completo. A sequência CH3 compreende os aminoácidos 341-447 da cadeia pesada de IgG1 humana de comprimento completo.

[00177] Normalmente, um Fc inclui duas sequências da cadeia pesada contíguas ou sequências polipeptídicas de Fc (A e B) que são capazes de dimerizar. Em algumas modalidades, uma ou ambas as sequências dessas sequências podem incluir uma ou mais mutações ou modificações nos seguintes locais: L351, F405, Y407, T366, K392, T394, T350, S400 e / ou N390, usando numeração EU. Em algumas modalidades, um Fc pode

incluir uma sequência mutante como mostrado na Tabela G. Em algumas modalidades, um Fc pode incluir as mutações da Variante 1 A-B. Em algumas modalidades, um Fc pode incluir as mutações da Variante 2 A-B. Em algumas modalidades, um Fc pode incluir as mutações da Variante 3 A-B. Em algumas modalidades, um Fc pode incluir as mutações da Variante 4 A-B. Em algumas modalidades, um Fc pode incluir as mutações da Variante 5 A-B.

Tabela G: sequências Fc de IgG1

Sequência Fc de IgG1 humana 231-447 (numeração EU)	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 85)

Sequência Fc de IgG1 variante (231-447)	**Cadeia**	**Mutações**
1	A	L351Y_F405A_Y407V
	B	T366L_K392M_T394W
2	A	L351Y_F405A_Y407V
	B	T366L_K392L_T394W
3	A	T350V_L351Y_F405A_Y407V
	B	T350V_T366L_K392L_T394W
4	A	T350V_L351Y_F405A_Y407V
	B	T350V_T366L_K392M_T394W
5	A	T350V_L351Y_S400E_F405A_Y407V
	B	T350V_T366L_N390R_K392M_T394W

[00178] Métodos adicionais para modificar os polipeptídeos Fc do construto Fc para promover a formação de Fc heterodimérico são conhecidos na técnica e incluem, por exemplo, aqueles descritos na Publicação de Patente Internacional WO 96/027011 (botões em furos), em Gunasekaran et al. (Gunasekaran K. et al. (2010) J Biol Chem. 285, 19637-

46, projeto eletrostático para atingir heterodimerização seletiva), em Davis et al. (Davis, JH. et al. (2010) Prot Eng Des Sel ;23(4): 195-202, strand exchange engineered domain (SEED) technology), e em Labrijn et al [Efficient generation of stable bispecific IgG1 by controlled Fab-arm exchange. Labrijn AF, Meesters JI, de Goeij BE, van den Bremer ET, Neijssen J, van Kampen MD, Strumane K, Verploegen S, Kundu A, Gramer MJ, van Berkel PH, van de Winkel JG, Schuurman J, Parren PW. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Mar 26;110(13):5145-50.

Modificações de sequência CH2

[00179] Em algumas modalidades, o andaime é um construto Fc em que cada polipeptídeo Fc do construto Fc compreende uma sequência CH2 e uma sequência CH3. Um exemplo de uma sequência CH2 de um Fc são os aminoácidos 231-340 da sequência mostrada na Tabela B. Várias funções efetoras são mediadas por receptores Fc (FcRs), que se ligam ao Fc de um anticorpo.

[00180] Os termos "receptor Fc" e "FcR" são usados para descrever um receptor que se liga à região Fc de um anticorpo. Por exemplo, um FcR pode ser um FcR humano de sequência nativa. Geralmente, um FcR é aquele que se liga a um anticorpo IgG (um receptor gama) e inclui receptores das subclasses FcγRI, FcγRII e FcγRIII, incluindo variantes alélicas e formas de emendas alternativas desses receptores. Os receptores FcγRII incluem FcγRIIA (um "receptor de ativação") e FcγRIIB (um "receptor de inibição"), que têm sequências de aminoácidos semelhantes que diferem principalmente nos seus domínios citoplasmáticos. As imunoglobulinas de outros isótipos também podem ser ligadas por certos FcRs (ver, por exemplo, Janeway et al., Immuno Biology: the immune system in health and disease, (Elsevier Science Ltd., NY) (4th ed., 1999)). O receptor de ativação FcyRIIA contém um motivo de ativação à base de tirosina (ITAM) de imunorreceptor em seu domínio citoplasmático. O receptor de inibição FcγRIIB contém um motivo de inibição à base de tirosina de imunorreceptor (ITIM) em seu domínio citoplasmático (revisto em Daëron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)). Os FcRs são revistos em Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991); Capel et al., Immunomethods 4:25-34 (1994); and de Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995). Outros FcRs, incluindo os a serem identificados no futuro, são abrangidos pelo termo "FcR" neste documento. O termo também inclui o receptor neonatal FcRn, responsável pela transferência de IgGs maternas para o feto (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976); e Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)).

[00181] As modificações na sequência CH2 podem afetar a ligação de FcRs ao construto Fc. Uma série de modificações de aminoácidos na região Fc são conhecidas na técnica para alterar seletivamente a afinidade do Fc para diferentes receptores Fcgamma. Em alguns aspectos, o Fc compreende uma ou mais modificações para promover a ligação seletiva de receptores Fc-gama.

[00182] Mutações exemplificativas que alteram a ligação de FcRs ao Fc estão listadas abaixo:

S298A/E333A/K334A, S298A/E333A/K334A/K326A (Lu Y, Vernes JM, Chiang N, et al. J Immunol Methods. 2011 Feb 28;365(1-2):132-41);

F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L, F243L/R292P/Y300L/L235V/P396L (Stavenhagen JB, Gorlatov S, Tuaillon N, et al. Cancer Res. 2007 Sep 15;67(18):8882-90; Nordstrom JL, Gorlatov S, Zhang W, et al. Breast Cancer Res. 2011 Nov 30;13(6):R123);

F243L (Stewart R, Thom G, Levens M, et al. Protein Eng Des Sel. 2011 Sep;24(9):671-8.)

S298A/E333A/K334A (Shields RL, Namenuk AK, Hong K, et al. J Biol Chem. 2001 Mar 2;276(9):6591-604);

S239D/I332E/A330L, S239D/I332E (Lazar GA, Dang W, Karki S, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Mar 14;103(11):4005-10);

S239D/S267E, S267E/L328F (Chu SY, Vostiar I, Karki S, et al. Mol Immunol. 2008 Sep;45(15):3926-33);

S239D/D265S/S298A/I332E, S239E/S298A/K326A/A327H, G237F/S298A/A330L/I332, S239D/I332E/S298A, S239D/K326E/A330L/I332E/S298A, G236A/S239D/D270L/I332E, S239E/S267E/H268D, L234F/S267E/N325L, G237F/V266L/S267D e outras mutações listadas em WO2011 / 120134 e WO2011 / 120135, aqui incorporadas por referência.

[00183] *Therapeutic Antibody Engineering* (por William R. Strohl and Lila M. Strohl, Woodhead Publishing series in Biomedicine No 11, ISBN 1 907568 37 9, Oct 2012) lista mutações na página 283.

[00184] Em algumas modalidades, o Fc heterodimérico compreende polipeptídeos Fc com sequências CH2 compreendendo uma ou mais modificações de aminoácidos assimétricas. Modificações assimétricas exemplificativas de aminoácidos são

descritas no Pedido de Patente Internacional PCT/CA2014/050507. Em uma modalidade, o Fc heterodimérico compreende polipeptídeos Fc com as substituições de aminoácidos L234A, L235A e D265S que reduzem a ligação de FcγR.

Modificações adicionais para melhorar a função efetora

[00185] Em algumas modalidades, o construto Fc inclui modificações de aminoácidos que melhoram sua capacidade de mediar a função efetora. Tais modificações são conhecidas na técnica e incluem afucosilação, ou engenharia da afinidade do Fc em relação a um receptor de ativação, principalmente FCγRIIIa para ADCC, e em relação a C1q para CDC.

[00186] Os métodos de produção de regiões Fc de anticorpo com pouca ou nenhuma fucose no sítio de glicosilação Fc (numeração Asn 297 EU) sem alterar a sequência de aminoácidos são bem conhecidos na técnica. A tecnologia GlymaX® (ProBioGen AG) é baseada na introdução de um gene para uma enzima que desvia a via celular da biossíntese de fucose em células usadas para a produção da região Fc do anticorpo. Isso evita a adição do açúcar "fucose" à parte do carboidrato do anticorpo ligado ao N pelas células. (von Horsten et al. (2010) Glycobiology. 20 (12):1607-18). Outra abordagem para obter construtos de anticorpos com construtos Fc com níveis reduzidos de fucosilação pode ser encontrada na Patente U.S. 8.409.572, que ensina a seleção de linhagens celulares para produção de anticorpos com base em sua capacidade de produzir níveis mais baixos de fucosilação em anticorpos. Em algumas modalidades, o Fc dos construtos de anticorpo ou construtos de anticorpo pode ser totalmente fucosilado (o que significa que não contêm fucose detectável) ou pode ser parcialmente fucosilado, o que significa que o indutor de apresentação TAA em formato de anticorpo biespecífico contém menos de 95%, menos de 85%, menos de 75%, menos de 65%, menos de 55%, menos de 45%, menos de 35%, menos de 25%, menos de 15% ou menos de 5% da quantidade de fucose normalmente detectada para um anticorpo semelhante produzido por um sistema de expressão de mamífero.

[00187] Assim, em algumas modalidades, os construtos de anticorpo descritos neste documento podem incluir um Fc dimérico que compreende uma ou mais modificações de aminoácidos, conforme observado na Tabela H, que conferem função efetora melhorada. Em algumas modalidades, o construto pode ser fucosilado para melhorar a função efetora.

Tabela H: domínios CH2 e engenharia de função efetora

Referência	Mutações	Efeito
Lu, 2011, Ferrara 2011, Mizushima 2011	Afucosilado	ADCC aumentado
Lu, 2011	S298A/E333A/K334A	ADCC aumentado
Lu, 2011	S298A/E333A/K334A/K326A	ADCC aumentado
Stavenhagen, 2007	F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L	ADCC aumentado
Nordstrom, 2011	F243L/R292P/Y300L/L235V/P396L	ADCC aumentado
Stewart, 2011	F243L	ADCC aumentado
Shields, 2001	S298A/E333A/K334A	ADCC aumentado
Lazar, 2006	S239D/I332E/A330L	ADCC aumentado
Lazar, 2006	S239D/I332E	ADCC aumentado
Bowles, 2006	AME-D, mutações não especificadas	ADCC aumentado
Heider, 2011	37,1, mutações não divulgadas	ADCC aumentado
Moore, 2010	S267E/H268F/S324T	CDC aumentado

[00188] As modificações de Fc que reduzem FcγR e / ou a ligação do complemento e / ou a função efetora são conhecidas na técnica. Várias publicações descrevem estratégias que foram usadas para projetar anticorpos com atividade efetora reduzida ou silenciada (ver Strohl, WR (2009), Curr Opin Biotech 20:685-691, and Strohl, WR and Strohl LM, "Antibody Fc engineering for optimal antibody performance" In

Therapeutic Antibody Engineering, Cambridge: Woodhead Publishing (2012), pp 225-249). Essas estratégias incluem a redução da função efetora por meio da modificação da glicosilação, o uso de andaimes de IgG2 / IgG4 ou a introdução de mutações nas regiões de dobradiça ou CH2 do Fc. Por exemplo, a Publicação de Patente US 2011/0212087 (Strohl), a Publicação de Patente Internacional WO 2006/105338 (Xencor), Publicação de Patente U.S. 2012/0225058 (Xencor), Publicação de Patente U.S. 2012/0251531 (Genentech) e Strop et al ((2012) J. Mol. Biol. 420:204-219) descrevem modificações específicas para reduzir FcγR ou complementar a ligação ao Fc.

[00189] Exemplos específicos e não limitativos de modificações de aminoácidos conhecidas para reduzir FcγR ou complementar a ligação ao Fc incluem aqueles identificados na Tabela I.

Tabela I: Modificações para reduzir FcγR ou complementar a ligação ao Fc

Empresa	**Mutações**
GSK	N297A
Ortho Biotech	L234A/L235A
Protein Design labs	IGG2 V234A/G237A
Wellcome Labs	IGG4 L235A/G237A/E318A
GSK	IGG4 S228P/L236E
Alexion	IGG2/IGG4combo
Merck	IGG2 H268Q/V309L/A330S/A331S
Bristol-Myers	C220S/C226S/C229S/P238S
Seattle Genetics	C226S/C229S/E3233P/L235V/L235A
Amgen	Produção de E. coli, não glico
Medimune	L234F/L235E/P331S
Trubion	Mutante de dobradiça, possivelmente C226S / P230S

[00190] Em algumas modalidades, o Fc compreende pelo menos uma modificação de aminoácido identificada na Tabela I. Em algumas modalidades, o Fc compreende a modificação de aminoácido de pelo menos um de L234, L235 ou D265. Em algumas modalidades, o Fc compreende modificação de aminoácidos em L234, L235 e D265. Em algumas modalidades, o Fc compreende a modificação de aminoácido L234A, L235A e D265S.

[00191] Em modalidades em que o andaime é um Fc, o domínio de ligação 4-1BB pode ser ligado ao N-terminal de um dos polipeptídeos Fc. Em outras modalidades, o domínio de ligação 4-1BB pode ser ligado ao C-terminal de um dos polipeptídeos Fc. Em certas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA pode compreender um domínio de ligação 4-1BB ligado ao N-terminal de um dos polipeptídeos Fc e outro domínio de ligação 4-1BB ligado ao N-terminal do outro polipeptídeo Fc. Em ainda outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA pode compreender um domínio de ligação 4-1BB que está ligado ao C-terminal de um dos polipeptídeos Fc. Em certas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA pode compreender um domínio de ligação 4-1BB ligado ao C-terminal de um dos polipeptídeos Fc e outro domínio de ligação 4-1BB ligado ao C-terminal do outro polipeptídeo Fc.

[00192] Em modalidades adicionais em que o andaime é um Fc, o domínio de ligação TAA pode ser ligado ao N-terminal de um dos polipeptídeos Fc. Em outras modalidades, o domínio de ligação ao antígeno TAA pode ser ligado ao C-terminal de um dos polipeptídeos Fc. Em certas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA pode compreender um domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao N-terminal de um dos polipeptídeos Fc e outro domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao N-terminal do outro polipeptídeo Fc. Em ainda outras modalidades, o 4-1BB x TAA pode compreender um domínio de ligação o antígeno TAA que está ligado ao C-terminal de um dos polipeptídeos Fc. Em certas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA pode compreender um domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao C-terminal de um dos polipeptídeos Fc e outro domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao C-terminal do outro polipeptídeo Fc.

[00193] Como seria entendido por um versado na técnica, em algumas modalidades, combinações das ligações acima também são possíveis. Combinações exemplificativas específicas são descritas a seguir.

Formatos de construtos de anticorpos

4-1BB x construtos de anticorpo TAA

[00194] Os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA aqui descritos compreendem um domínio de ligação 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno TAA, em que o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime. Como é conhecido na técnica, esses construtos de anticorpo 4-1BB x TAA podem ser construídos em muitos formatos; formatos exemplificativos e não limitativos são descritos abaixo.

[00195] Em modalidades em que o domínio de ligação 4-1BB do construto de anticorpo 4-1BB x TAA é um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB, o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB pode estar no formato Fab, formato scFv ou formato sdAb. Em uma modalidade, o construto de anticorpo compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que está no formato Fab e um domínio de ligação ao antígeno TAA, em que o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados diretamente ou indiretamente a um andaime. Em outra modalidade, o construto de anticorpo compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que está no formato scFv e um domínio de ligação ao antígeno TAA, em que o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados diretamente ou indiretamente a um andaime. Em uma modalidade, o construto de anticorpo compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que está no formato sdAb e um domínio de ligação ao antígeno TAA, em que o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados diretamente ou indiretamente a um andaime. Em algumas dessas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB está ligado ao N-terminal do andaime e o domínio de ligação ao antígeno TAA está ligado ao C-terminal do andaime. Em outras modalidades, tanto o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB quanto o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados ao N-terminal do andaime.

[00196] Em algumas modalidades, o andaime é um construto Fc. Em tal modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao N-terminal de um primeiro polipeptídeo Fc, um segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao N-terminal de um segundo polipeptídeo Fc e um domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao C-terminal do primeiro polipeptídeo Fc. Em algumas modalidades, o primeiro e o segundo domínios de ligação ao

antígeno 4-1BB estão no formato Fab e o domínio de ligação ao antígeno TAA está no formato scFv. A Figura 2B fornece uma representação de um construto exemplificativo relacionado a essas modalidades.

[00197] Em outras modalidades onde o andaime é um construto Fc, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao N-terminal de um primeiro polipeptídeo Fc, um segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao N-terminal de um segundo polipeptídeo Fc, um primeiro domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao C-terminal do primeiro polipeptídeo Fc e um segundo TAA ligado ao C-terminal do segundo polipeptídeo Fc. Em algumas modalidades, o primeiro e o segundo domínios de ligação ao antígeno 4-1BB estão no formato Fab e o primeiro e o segundo domínios de ligação ao antígeno TAA estão no formato scFv. A Figura 2C fornece uma representação de um construto exemplificativo relacionado a essas modalidades.

[00198] Em outras modalidades em que o andaime é um construto Fc, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao N-terminal de um dos polipeptídeos Fc do construto Fc e um primeiro domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao C-terminal do mesmo polipeptídeo Fc. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB está no formato Fab e o domínio de ligação ao antígeno TAA está no formato scFv. A Figura 2D fornece uma representação de um construto exemplificativo relacionado a essas modalidades.

[00199] Em ainda outras modalidades em que o andaime é um construto Fc, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao N-terminal de um primeiro polipeptídeo Fc, um segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao N-terminal de um segundo polipeptídeo Fc e um domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao N-terminal do domínio VH do primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB. Em algumas modalidades, o primeiro e o segundo domínios de ligação ao antígeno 4-1BB estão no formato Fab e o domínio de ligação ao antígeno TAA está no formato scFv. A Figura 2E fornece uma representação de um construto exemplificativo relacionado a essas modalidades.

[00200] Em outras modalidades em que o andaime é um construto Fc, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao N-terminal de um primeiro polipeptídeo Fc e um domínio de ligação ao

antígeno TAA ligado ao N-terminal do segundo polipeptídeo Fc. Em algumas modalidades, os domínios de ligação ao antígeno 4-1BB estão no formato Fab e o domínio de ligação ao antígeno TAA está no formato scFv. A Figura 2F fornece uma representação de um construto exemplificativo relacionado a essas modalidades.

[00201] Em outras modalidades em que o andaime é um construto Fc, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao N-terminal de um dos polipeptídeos Fc do construto Fc e um domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao N-terminal da região VH do domínio de ligação ao antígeno 4-1BB. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB está no formato Fab e o domínio de ligação ao antígeno TAA está no formato scFv. A Figura 2G fornece uma representação de um construto exemplificativo relacionado a essas modalidades.

[00202] Em outras modalidades em que o andaime é um construto Fc, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao N-terminal de um dos polipeptídeos Fc do construto Fc, um domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao C-terminal do mesmo polipeptídeo Fc, e um domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao C-terminal do segundo polipeptídeo Fc. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB está no formato Fab e o domínio de ligação ao antígeno TAA está no formato scFv. A Figura 2G fornece uma representação de um construto exemplificativo relacionado a essas modalidades.

[00203] Em ainda outras modalidades em que o andaime é um construto Fc, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao N-terminal de um dos polipeptídeos Fc do construto Fc e um domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao C-terminal do segundo polipeptídeo Fc. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB está no formato Fab e o domínio de ligação ao antígeno TAA está no formato scFv.

[00204] Em uma modalidade, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação 4-1BB que é um ligando 4-1BB, o ligando 4-1BB ligado ao C-terminal de um dos polipeptídeos Fc de um construto Fc, e um domínio de ligação ao antígeno TAA que está em um formato Fab, ligado ao N-terminal do outro polipeptídeo Fc do construto Fc.

Atividade funcional dos construtos de anticorpo 4-1BB x TAA

[00205] Os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA fornecidos neste documento podem ligar 4-1BB e um TAA com uma faixa de afinidades. A afinidade ou avidez de um anticorpo para um antígeno pode ser determinada experimentalmente usando métodos conhecidos na técnica (ver, por exemplo, Berzofsky, et al., "Antibody-Antigen Interactions, " In Fundamental Immunology, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York, N.Y. (1984); Kuby, Janis Immunology, W.H. Freeman and Company: New York, N.Y. (1992); e métodos aqui descritos).

[00206] A afinidade medida de uma interação particular anticorpo-antígeno pode variar se medida em diferentes condições (por exemplo, concentração de sal, pH). Assim, as medições de afinidade e outros parâmetros de ligação ao antígeno são preferencialmente feitas com soluções padronizadas de anticorpo e antígeno, e um tampão padronizado, tal como o tampão aqui descrito. A afinidade, K_D é uma razão de k_{on}/k_{off}. Geralmente, um K_D na faixa micromolar é considerado de baixa afinidade para anticorpos bivalentes monoespecíficos. Geralmente, um K_D na faixa picomolar é considerado de alta afinidade para anticorpos bivalentes monoespecíficos. Como é conhecido na técnica, a afinidade de um anticorpo medida como um aglutinante monovalente, é geralmente menor do que aquela medida como um aglutinante bivalente.

[00207] Em algumas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que tem um K_D para 4-1BB humano entre cerca de 15nM e 100nM, cerca de 15nM e 200nM, ou cerca de 15nM e 500nM, entre cerca de 100pM e 1μM, medido como um aglutinante monovalente. Em modalidades adicionais, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que tem um K_D para 4-1BB humano entre cerca de 1nM e cerca de 1000nM, ou entre cerca de 10nM a cerca de 500nM, ou entre cerca de 20nM e cerca de 400 nM medido como um aglutinante monovalente. Em outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA compreende um domínio de ligação ao antígeno TAA tendo um K_D para o TAA entre cerca de 0,1 nM a cerca de 50 nM, ou cerca de 1 nM a cerca de 20 nM, ou cerca de 1 nM a cerca de 10 nM. O KD pode ser medido por uma série de métodos conhecidos, por exemplo SPR, conforme descrito em outro lugar neste documento. Conforme usado nesta seção, o termo "cerca de" significa ± 10% do valor para K_D identificado em cada faixa.

[00208] Em algumas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA se

liga a uma ou mais linhagens celulares que expressam TAA, conforme determinado por, por exemplo, ELISA, BiaCore™ e / ou citometria de fluxo, ou conforme descrito nos Exemplos. Em certas modalidades, a linhagem celular que expressa TAA é uma linhagem celular de adenocarcinoma de ovário, como, por exemplo, IGROV1, SKOV3 ou OVCAR3. Em certas modalidades, a linhagem celular que expressa TAA é uma linhagem celular de carcinoma de pulmão. Em certas modalidades, a linhagem celular de carcinoma do pulmão é uma linhagem de células escamosas do pulmão, como H226; ou uma linhagem de células de adenocarcinoma do pulmão, como H441, HCC827, H1573, H1975 ou H1563; ou uma linhagem de células de carcinoma do pulmão, como H1299, ou um carcinoma de células grandes do pulmão, como H661. Em algumas modalidades, a linhagem celular que expressa TAA é uma linhagem de células que expressa HER2, como SKBr3, umalinhagem de células que expressa FRα, uma linhagem de células que expressa LIV-1, linhagem de células que expressa NaPi2b ou uma linhagem de células que expressa mesotelina.

[00209] Em algumas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA pode ser capaz de estimular a atividade de 4-1BB em células T, conforme medido pela produção de citocinas, na presença de células que expressam TAA. Em algumas modalidades, a célula que expressa TAA expressa o TAA na superfície da célula em mais que cerca de 500.000 moléculas por célula, conforme medido por citometria de fluxo quantitativa ou outro método quantitativo. Em algumas modalidades, a célula que expressa TAA expressa o TAA na superfície da célula em mais que cerca de 100.000 moléculas por célula, conforme medido por citometria de fluxo quantitativa ou outro método quantitativo. Em algumas modalidades, a célula que expressa TAA expressa o TAA na superfície celular entre cerca de 100.000 e 500.000 moléculas por célula, conforme medido por citometria de fluxo quantitativa ou outro método quantitativo. Em algumas modalidades, a célula que expressa o TAA expressa o TAA na superfície celular entre cerca de 50.000 e 500.000 moléculas por célula, conforme medido por citometria de fluxo quantitativa ou outro método quantitativo.

[00210] Em algumas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA se liga a células que expressam 4-1BB conforme determinado pelos métodos descritos acima. Em algumas modalidades, as células que expressam 4-1BB são células T, NK ou NKT primárias, células T, NK ou NKT primárias ativadas, células T regulatórias ou células T, NKT ou NKT extraídas de tumores

[00211] Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA aqui descritos podem ser capazes de estimular a sinalização de 4-1BB em células que expressam 4-1BB. Métodos de teste para atividade de 4-1BB são conhecidos na técnica. Por exemplo, um ensaio de gene repórter NF-κB conforme descrito nos exemplos pode ser usado para avaliar a capacidade dos construtos de anticorpo 4-1BB x TAA para promover a ativação NF-κB e a translocação do núcleo, subsequentemente conduzindo a expressão do gene repórter. Como outro exemplo, um ensaio de cocultura de células T primárias, conforme descrito nos exemplos, pode ser empregado para avaliar a capacidade dos construtos de anticorpo 4-1BB x TAA de estimular a ativação de células T medindo o aumento ou diminuição na produção de uma citocina (tal como IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-21, IL-22, IL-35, IFN-γ, TNF-α, TGF-β), aumentar ou diminuir a expressão de receptores de quimiocinas (CXCR3, CXCR5, CXCR6, CCR1, CCR2, CCR4, CCR5, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10), aumentar ou diminuir a expressão dos principais fatores de transcrição (Tbet, GATA3, FOXP3, EOMES, TOX), aumentar ou diminuir a atividade metabólica ou proteínas que regulam a atividade metabólica, aumentar ou diminuir a expressão de proteínas anti ou pró-apoptóticas (Bcl2, Bcl-Xl, Bim, Mcl1), aumentar ou diminuir a expressão de marcadores de superfície (PD1, TIGIT, LAG3, ICOS, CD45RA, CD45RO, CD44, CD69, CD44, KLRG1), aumentar ou diminuir a capacidade das células T de matar células tumorais ou a fosforilação, localização ou atividade de proteínas de sinalização (Akt / PkB, PI3K, CD3zeta, LAT, SLP76, IκK, NFκB, família TRAF, MEK, MEKK, NIK, ERK, p38 MAPK, c-fos, c-jun, ATF, Foxo) ou proteínas que regulam o ciclo celular (CyclinD3, p27kip1). Isso pode ser avaliado tanto no nível de proteína, mRNA ou disponibilidade cromossômica. A atividade no ensaio de células T primárias também pode ser avaliada examinando o aumento ou diminuição no teor de DNA celular total (medindo a incorporação de ^{3}H-timidina, bromodeoxiuridina ou rastreadores análogos) ou por aumento ou diminuição nos níveis de um corante de rastreamento que é capaz de determinar o número de divisões em ensaios onde as células são marcadas com o corante (CFDA-SE, Cell Tracker Violet, PKH26). Estes ensaios são bem conhecidos por aqueles versados na técnica e, em muitos casos, reagentes e kits para realizar esses ensaios estão disponíveis comercialmente, como por exemplo, CellTracker ^{TM}Violet BMQC Dye (ThermoFisher Scientific) ou CellTrace™ Violet Cell proliferation Kit, ThermoFisher Scientific/Invitrogen™.

Construtos de anticorpo 4-1BB

[00212] A presente divulgação fornece ainda construtos de anticorpo ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos que se ligam especificamente ao 4-1BB ECD (construtos de anticorpo 4-1BB). Em algumas modalidades, esses construtos de anticorpo 4-1BB compreendem as sequências VH e VL conforme estabelecido nas Tabelas 13 e 14, e as sequências CDR dessas sequências VH e VL podem ser encontradas na Tabela 18. Em certas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB é capaz de agonizar a atividade de 4-1BB, conforme descrito em outro lugar neste documento. Em algumas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB se liga a qualquer um de CRD1, CRD2, CRD3 ou CDR4 de 4-1BB humano.

[00213] Em uma modalidade, um construto de anticorpo 4-1BB ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma sequência variável da cadeia pesada compreendendo três CDRs da cadeia pesada e uma sequência variável da cadeia leve compreendendo três CDRs da cadeia leve, em que as CDRs da cadeia pesada e as CDRs da cadeia leve são de qualquer um dos anticorpos 1G1, 1B2, 1C3, 1C8, 2A7, 2E8, 2H9, 3D7, 3H1, 3E7, 3G4, 4B11, 4E6, 4F9, 4G10, 5E2, 5G8 ou 6B3 e o construto de anticorpo 4-1BB se liga a 4-1BB humano. Em algumas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB ou fragmento de ligação ao antígeno compreende uma sequência variável da cadeia pesada (VH) compreendendo três CDRs e uma sequência variável da cadeia leve (VL) compreendendo três CDRs, em que as CDRs da cadeia pesada e as CDRs da cadeia leve são de qualquer um dos anticorpos 1G1, 1C3, 1C8, 2E8, 3E7, 4E6, 5G8 ou 6B3, e o construto de anticorpo 4-1BB se liga ao 4-1BB humano.

[00214] Em certas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB compreende sequências VH e VL que são humanas ou humanizadas. Em outras modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB compreende uma sequência VH e uma sequência VL com pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade de sequência com as sequências VH e VL de qualquer uma das variantes de v28726, v28727, v28728, v28730, v28700, v28704, v28705, v28706, v28711, v28712, v28713, v28696, v28697, v28698, v28701, v28702, v28703, v28707, v28683, v28684, v28685, v28686, v28687, v28688, v28689, v28690, v28691, v28692, v28694 ou v28695.

[00215] As sequências anti-4-1BB CDR, VH e VL podem ser utilizadas para construir vários formatos de construtos de anticorpo como é conhecido na técnica. Por

exemplo, essas sequências podem ser usadas para construir fragmentos Fab ou scFvs, que podem ser ligados a um andaime, tal como um Fc ou outros andaimes conforme descrito neste documento. Formatos exemplificativos para construtos de anticorpos que compreendem essas sequências CDR, VH e VL são representados na Figura 1. Os construtos de anticorpos podem ser monovalentes, bivalentes ou multivalentes. Em algumas modalidades, os construtos de anticorpos são monoespecíficos. Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo são monoespecíficos e no formato de ocorrência natural (FSA).

[00216] As sequências VH e VL anti-4-1BB conforme estabelecido nas Tabelas 13, 14 e as sequências CDR anti-4-1BB encontradas na Tabela 18 podem ainda ser utilizadas na construção de anticorpos biespecíficos ou multiespecíficos, tais como os construtos de anticorpos 4-1BB x TAA descritos aqui, ou outros construtos de anticorpos compreendendo pelo menos um domínio de ligação ao antígeno que se liga ao ECD de 4-1BB.

[00217] Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo 4-1BB na forma monovalente ligam 4-1BB humano com um K_D para 4-1BB entre cerca de 15nM e 100nM, cerca de 15nM e 200nM, ou cerca de 15nM e 500nM, entre cerca de 100pM e 1μM. Em modalidades adicionais, o construto de anticorpo 4-1BB na forma monovalente compreende um domínio de ligação ao antígeno 4-1BB que tem um K_D para 4-1BB humano entre cerca de 1nM e cerca de 1000nM, ou entre cerca de 10nM a cerca de 500nM, ou entre cerca de 20nM e cerca de 400 nM. Como indicado acima, o KD pode ser medido por uma série de métodos conhecidos, por exemplo SPR, conforme descrito em outro lugar neste documento. Conforme usado nesta seção, o termo "cerca de" significa ± 10% do valor para K_D identificado em cada faixa. Em uma modalidade relacionada, o termo "cerca de" significa ± 20% do valor para K_D conforme medido por SPR.

[00218] Os construtos de anticorpo 4-1BB aqui descritos podem ser preparados, testados e usados conforme descrito em outro lugar neste documento.

Construtos de anticorpos FRα

[00219] A presente divulgação fornece ainda construtos de anticorpo ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos que se ligam especificamente a FRα (construtos de anticorpo FRα). Esses construtos de anticorpo FRα compreendem as sequências VH e VL conforme estabelecido nas Tabelas 17 e 20, e as sequências CDR dessas sequências VH e VL podem ser encontradas na Tabela 18. Em uma modalidade, os

construtos de anticorpo FRα se ligam a FRα humano.

[00220] Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo FRα compreendem uma sequência variável da cadeia pesada compreendendo três CDRs da cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo três CDRs da cadeia leve, em que as CDRs da cadeia pesada e as CDRs da cadeia leve são do anticorpo 8K22 ou anticorpo 1H06.

[00221] Em certas modalidades, os construtos de anticorpo FRα compreendem sequências VH e VL que são humanas ou humanizadas. Em modalidades relacionadas, o construto de anticorpo FRα compreende uma sequência VH e uma sequência VL tendo pelo menos 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade de sequência com as sequências VH e VL de qualquer uma das variantes 23794, 23795, 23796, 23797, 23798, 23799, 23800, 23801, 23802, 23803, 23804, 23805, 23806, 23807, 23808, 23809, 23810, 23811, 23812, 23813, 23814, 23815, 23816, 23817, ou 23818, derivado do anticorpo 8K22.

[00222] Em outras modalidades, os construtos de anticorpo FRα compreendem sequências VH e VL humanizadas compreendendo as CDRs da cadeia pesada e as CDRs da cadeia leve do anticorpo 1H06.

[00223] Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo FRα humanizado compreendem um domínio Fab FRα humanizado que é mais estável do que o Fab parental a partir do qual o domínio Fab humanizado é derivado. Em modalidades relacionadas, o domínio Fab FRα humanizado pode exibir uma Tm que é até 10°C mais alta do que aquela do Fab parental. Em algumas modalidades, o domínio Fab FRα humanizado pode exibir uma Tm que é até 5°C mais alta do que aquela do Fab parental.

[00224] Em certas modalidades, o construto de anticorpo FRα tem uma afinidade de ligação ou K_D para FRα humano variando de 100pM a 100nM. Em algumas modalidades, o construto de anticorpo FRα tem uma afinidade de ligação ou K_D para FRα humano variando de 10pM a 100nM. Em modalidades relacionadas, o construto de anticorpo FRα tem um K_D para FRα humano variando de 1nM a 50nM. Em modalidades relacionadas adicionais, a afinidade dos construtos de anticorpos FRα para FRα humano é medida por interferometria de biocamada (BLI).

[00225] Estas sequências anti-FRα CDR, VH e VL descritas nas Tabelas 17, 18 e 20 podem ser utilizadas para construir vários formatos de construtos de anticorpo como é conhecido na técnica. Por exemplo, essas sequências podem ser usadas para construir

fragmentos Fab ou scFvs, que podem ser ligados a uma estrutura tal como um Fc ou outro andaime conforme descrito neste documento. Formatos exemplificativos para construtos de anticorpos que compreendem essas sequências CDR, VH e VL são representados na Figura 1. Os construtos de anticorpos podem ser monovalentes, bivalentes ou multivalentes. Em algumas modalidades, os construtos de anticorpos são monoespecíficos. Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo são monoespecíficos e no formato de ocorrência natural (FSA).

[00226] As sequências VH e VL anti-FRα conforme estabelecido nas Tabelas 17, 20 e as sequências CDR anti-FRα encontradas na Tabela 18 podem ainda ser utilizadas na construção de anticorpos biespecíficos ou multiespecíficos, tais como os construtos de anticorpos 4-1BB x FRα descritos aqui, ou outros construtos de anticorpos compreendendo pelo menos um domínio de ligação ao antígeno que se liga ao FRα.

[00227] Os construtos de anticorpo FRα aqui descritos podem ser preparados, testados e usados conforme descrito em outro lugar neste documento.

Métodos de preparação de construtos de anticorpo

[00228] Os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA, os construtos de anticorpo FRα e os construtos de anticorpo 4-1BB aqui descritos podem ser produzidos usando métodos e composições recombinantes, por exemplo, conforme descrito na Patente U.S. 4.816.567. Este método e outros métodos para produzir esses construtos são descritos a seguir.

[00229] Certas modalidades, portanto, se referem a um ou mais ácidos nucleicos que codificam um construto de anticorpo aqui descrito. Esses ácidos nucleicos podem codificar as sequências de aminoácidos correspondentes aos construtos de anticorpo 4-1BB x TAA ou aos construtos de anticorpo 4-1BB.

[00230] Certas modalidades se referem a um ou mais vetores (por exemplo, vetores de expressão) compreendendo ácido nucleico que codifica os construtos de anticorpo aqui descritos. Em algumas modalidades, o ácido nucleico que codifica o construto de anticorpo está incluído em um vetor multicistrônico. Em outras modalidades, cada cadeia polipeptídica do construto de anticorpo é codificada por um vetor separado. É ainda contemplado que as combinações de vetores podem compreender ácido nucleico que codifica um único construto de anticorpo.

[00231] Certas modalidades se referem a células hospedeiras que

compreendem esse ácido nucleico ou um ou mais vetores que compreendem o ácido nucleico. Em algumas modalidades, por exemplo, onde o construto de anticorpo é um anticorpo multiespecífico ou biespecífico, uma célula hospedeira compreende (por exemplo, foi transformada com): (1) um vetor que compreende um ácido nucleico que codifica uma sequência de aminoácidos compreendendo o VL do domínio de ligação ao antígeno e uma sequência de aminoácidos compreendendo o VH do domínio de ligação ao antígeno, ou (2) um primeiro vetor compreendendo um ácido nucleico que codifica uma sequência de aminoácidos compreendendo o VL do domínio de ligação ao antígeno e um segundo vetor compreendendo um ácido nucleico que codifica uma sequência de aminoácidos compreendendo o VH do domínio de ligação ao antígeno. Em algumas modalidades, a célula hospedeira é eucariótica, por exemplo, uma célula de ovário de hamster chinês (CHO), ou célula de rim embrionário humano (HEK), ou célula linfoide (por exemplo, células Y0, NS0, Sp20).

[00232] Certas modalidades se referem a um método de produção de um construto de anticorpo, em que o método compreende cultivar uma célula hospedeira compreendendo ácido nucleico que codifica o construto de anticorpo, como descrito acima, sob condições adequadas para a expressão do construto de anticorpo e, opcionalmente, recuperar o construto de anticorpo da célula hospedeira (ou meio de cultura de células hospedeiras).

[00233] Para a produção recombinante do construto de anticorpo, o ácido nucleico que codifica um construto de anticorpo, por exemplo, como descrito acima, é isolado e inserido em um ou mais vetores para adicionalmente clonar e/ou expressão em uma célula hospedeira. Esse ácido nucleico pode ser facilmente isolado e sequenciado usando procedimentos convencionais (por exemplo, usando sondas de oligonucleotídeos que são capazes de se ligar especificamente a genes que codificam as cadeias pesadas e leves do construto de anticorpo).

[00234] O termo "substancialmente purificado" refere-se a um construto aqui descrito, ou variante do mesmo, que pode ser substancialmente ou essencialmente livre de componentes que normalmente acompanham ou interagem com a proteína como encontrada em seu ambiente de ocorrência natural, ou seja, uma célula nativa ou célula hospedeira no caso de construto produzido de forma recombinante. Em certas modalidades, um construto que é substancialmente livre de material celular inclui preparações de proteínas com menos

de cerca de 30%, menos que cerca de 25%, menos que cerca de 20%, menos que cerca de 15%, menos que cerca de 10%, menos que cerca de 5%, menos que cerca de 4%, menos que cerca de 3%, menos que cerca de 2% ou menos que cerca de 1% (em peso seco) de proteína contaminante. Quando o construto é produzido de forma recombinante pelas células hospedeiras, a proteína em certas modalidades está presente em cerca de 30%, cerca de 25%, cerca de 20%, cerca de 15%, cerca de 10%, cerca de 5%, cerca de 4%, cerca de 3%, cerca de 2% ou cerca de 1% ou menos do peso seco das células. Quando o construto é produzido de forma recombinante pelas células hospedeiras, a proteína, em certas modalidades, está presente no meio de cultura em cerca de 5 g / L, cerca de 4 g / L, cerca de 3 g / L, cerca de 2 g / L, cerca de 1 g / L, cerca de 750 mg / L, cerca de 500 mg / L, cerca de 250 mg / L, cerca de 100 mg / L, cerca de 50 mg / L, cerca de 10 mg / L, ou cerca de 1 mg / L ou menos do peso seco das células.

[00235] Em certas modalidades, o termo "substancialmente purificado" aplicado a um construto que compreende um heteromultímero Fc e produzido pelos métodos descritos neste documento, tem um nível de pureza de pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, especificamente, um nível de pureza de pelo menos cerca de 75%, 80%, 85% e mais especificamente, um nível de pureza de pelo menos cerca de 90%, um nível de pureza de pelo menos cerca de 95%, um nível de pureza de pelo menos cerca de 99% ou mais, conforme determinado por métodos apropriados, tais como análise SDS / PAGE, RP-HPLC, SEC e eletroforese capilar.

[00236] Células hospedeiras adequadas para clonagem ou expressão de vetores de codificação de construto de anticorpo incluem células procarióticas ou eucarióticas descritas aqui.

[00237] Uma "célula hospedeira recombinante" ou "célula hospedeira" refere-se a uma célula que inclui um polinucleotídeo exógeno, independentemente do método usado para inserção, por exemplo, absorção direta, transdução, f-mating ou outros métodos conhecidos na técnica para criar células hospedeiras recombinantes. O polinucleotídeo exógeno pode ser mantido como um vetor não integrado, por exemplo, um plasmídeo ou, alternativamente, pode ser integrado no genoma do hospedeiro.

[00238] Conforme usado neste documento, o termo "eucarioto" refere-se a

organismos pertencentes ao domínio filogenético Eucarya, como animais (incluindo, mas não se limitando a, mamíferos, insetos, répteis, pássaros, etc.), ciliados, plantas (incluindo, mas não se limitando a, monocotiledôneas, dicotiledôneas, algas, etc.), fungos, leveduras, flagelados, microsporídios, protistas e semelhantes.

[00239] Conforme usado neste documento, o termo "procariota" refere-se a organismos procarióticos. Por exemplo, um organismo não eucariótico pode pertencer ao domínio filogenético de Eubacteria (incluindo, mas não limitado a, *Escherichia coli, Thermus thermophilus, Bacillus stearothermophilus, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas putida* e semelhantes), ou Archaea (incluindo mas não limitado a, *Methanococcus jannaschii, Methanobacterium thermoautotrophicum,* Halobacterium tal como *Haloferax volcanii* e Halobacterium espécies NRC-1, *Archaeoglobus fulgidus, Pyrococcus furiosus, Pyrococcus horikoshii, Aeuropyrum pernix* e semelhantes).

[00240] Por exemplo, um construto de anticorpo pode ser produzido em bactérias, em particular quando a glicosilação e a função efetora de Fc não são necessárias. Para a expressão de fragmentos de construto de ligação ao antígeno e polipeptídeos em bactérias, ver, por exemplo, Pat. U.S. 5.648.237, 5.789.199, e 5.840.523. (Ver também Charlton, *Methods in Molecular Biology, Vol.* 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J., 2003), pp. 245-254, descrevendo a expressão de fragmentos de anticorpo em *E. coli*.) Após a expressão, o construto de ligação ao antígeno pode ser isolado da pasta de células bacterianas em uma fração solúvel e pode ser posteriormente purificado.

[00241] Além de procariotos, micróbios eucarióticos, como fungos filamentosos ou leveduras, são hospedeiros de clonagem ou expressão adequados para vetores de codificação de construto de anticorpo, incluindo cepas de fungos e leveduras cujas vias de glicosilação foram "humanizadas", resultando na produção de um construto de ligação ao antígeno com um padrão de glicosilação parcial ou totalmente humano. Ver Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004), e Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006).

[00242] As células hospedeiras adequadas para a expressão de construtos de ligação ao antígeno glicosilado também são derivadas de organismos multicelulares (invertebrados e vertebrados). Exemplos de células de invertebrado incluem células vegetais e de inseto. Inúmeras cepas de baculovírus foram identificadas, as quais podem ser usadas em conjunto com células de insetos, particularmente para a transfecção de células de

Spodoptera frugiperda.

[00243] Culturas de células vegetais também podem ser utilizadas como hospedeiros. Ver, por exemplo, Pat. U.S. 5.959.177, 6.040.498, 6.420.548, 7.125.978 e 6.417.429 (descrevendo a tecnologia PLANTIBODIES ™ para a produção de construtos de ligação ao antígeno em plantas transgênicas).

[00244] Culturas de células de vertebrados também podem ser utilizadas como hospedeiros. Por exemplo, linhagens celulares de mamíferos que são adaptadas para crescer em suspensão podem ser úteis. Outros exemplos de linhas de células úteis hospedeiras de mamífero são de linhagem de rim de macaco CV1 transformada por SV40 (COS-7); linhagem de rim embrionário humano (células 293 ou 293 conforme descrito, por exemplo, em Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)); células de rim de hamster bebê (BHK); células de Sertoli de camundongo (células TM4, conforme descrito, por exemplo, em Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)); células de rim de macaco (CV1); células de rim de macaco verde africano (VERO-76); células de carcinoma cervical humano (HELA); células de rim canino (MDCK; células de fígado de rato do tipo búfalo (BRL 3A); células de pulmão humano (W138); células de fígado humano (Hep G2); tumor de mamífero de camundongo (MMT 060562); Células TRI, conforme descrito, por exemplo, em Mather et al., *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982); células MRC 5; e células FS4. Outras linhagens de células hospedeiras de mamíferos úteis incluem células de ovário de hamster chinês (CHO), incluindo células $DHFR^{-}$ CHO (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); e linhagens de células de mieloma, tais como Y0, NS0 e Sp2/0. Para uma revisão de certas linhagens de células hospedeiras de mamíferos adequadas para a produção de construtos de ligação a antígenos, ver, por exemplo, Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J.), pp. 255-268 (2003).

[00245] Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo aqui descritos são produzidos em células de mamífero estáveis, por um método que compreende: transfectar pelo menos uma célula de mamífero estável com: ácido nucleico que codifica o construto de anticorpo, em uma razão predeterminada; e expressar o ácido nucleico em pelo menos uma célula de mamífero. Em algumas modalidades, a razão predeterminada de ácido nucleico é determinada em experimentos de transfecção transitória para determinar a razão relativa de ácidos nucleicos de entrada que resulta na maior porcentagem do construto de

ligação ao antígeno no produto expresso.

[00246] Em algumas modalidades, no método de produção de um construto de anticorpo em células de mamífero estáveis, o produto de expressão da célula de mamífero estável compreende uma porcentagem maior do construto de ligação ao antígeno glicosilado desejado em comparação com os polipeptídeos monoméricos da cadeia pesada ou leve, ou outros anticorpos.

[00247] Se necessário, os construtos de anticorpo podem ser purificados ou isolados após a expressão. As proteínas podem ser isoladas ou purificadas de várias maneiras conhecidas pelos versados na técnica. Os métodos de purificação padrão incluem técnicas cromatográficas, incluindo troca iônica, interação hidrofóbica, afinidade, dimensionamento ou filtração em gel e fase reversa, realizada à pressão atmosférica ou em alta pressão usando sistemas como FPLC e HPLC. Os métodos de purificação também incluem técnicas eletroforéticas, imunológicas, precipitação, diálise e cromatofocagem. Técnicas de ultrafiltração e diafiltração, em conjunto com a concentração de proteínas, também são úteis. Como é bem conhecido na técnica, uma variedade de proteínas naturais ligam Fc e anticorpos, e essas proteínas podem ser usadas para purificação de construtos de ligação a antígeno. Por exemplo, as proteínas bacterianas A e G ligam-se à região Fc. Da mesma forma, a proteína L bacteriana se liga à região Fab de alguns anticorpos. A purificação geralmente pode ser ativada por um parceiro de fusão específico. Por exemplo, os anticorpos podem ser purificados usando resina de glutationa se uma fusão GST for empregada, cromatografia de afinidade Ni^{+2} se uma etiqueta His for empregada ou anticorpo anti-etiqueta imobilizado se uma etiqueta for usada. Para orientação geral sobre técnicas de purificação adequadas, ver, por exemplo, incorporado inteiramente por referência Protein Purification: Principles and Practice, 3rd Ed., Scopes, Springer-Verlag, NY, 1994, incorporado inteiramente por referência. O grau de purificação necessário irá variar dependendo do uso dos construtos de ligação ao antígeno. Em alguns casos, nenhuma purificação é necessária.

[00248] Em certas modalidades, os construtos de anticorpo podem ser purificados usando cromatografia de troca aniônica incluindo, mas não se limitando a, cromatografia em Q-sepharose, DEAE sepharose, poros HQ, poros DEAF, Toyopearl Q, Toyopearl QAE, Toyopearl DEAE, Resource / Source Q e Colunas DEAE, Fractogel Q e DEAE.

[00249] Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo são purificados usando cromatografia de troca catiônica incluindo, mas não se limitando a, SP-sepharose, CM sepharose, poros HS, poros CM, Toyopearl SP, Toyopearl CM, Resource / Source S e CM, Fractogel S e CM colunas e seus equivalentes e comparáveis.

[00250] Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo são expressos usando tradução livre de células ou sistemas de expressão. Os sistemas adequados são conhecidos na técnica, tais como, por exemplo, o método descrito por Stech et al, em Nature Scientific Reports 7: 12030, ou aqueles descritos por Gregorio et al, em Methods Protoc. 2019 2:24.

[00251] Além disso, os construtos de anticorpo podem ser sintetizados quimicamente usando técnicas conhecidas na técnica (por exemplo, ver Creighton, 1983, Proteins: Structures and Molecular Principles, W. H. Freeman & Co., N.Y and Hunkapiller et al., Nature, 310:105-111 (1984)). Por exemplo, um polipeptídeo correspondente a um fragmento de um polipeptídeo pode ser sintetizado pelo uso de um sintetizador de peptídeo. Além disso, se desejado, aminoácidos não clássicos ou análogos de aminoácidos químicos podem ser introduzidos como uma substituição ou adição na sequência polipeptídica. Os aminoácidos não clássicos incluem, mas não estão limitados a, aos D-isômeros dos aminoácidos comuns, ácido 2,4diaminobutírico, ácido alfa-amino isobutírico, ácido 4-aminobutírico, Abu, ácido 2-amino butírico, g- Abu, eAhx, ácido 6-amino hexanoico, Aib, ácido 2-amino isobutírico, ácido 3-amino propiônico, ornitina, norleucina, norvalina, hidroxiprolina, sarcosina, citrulina, homocitrulina, ácido cisteico, t-butilglicina, t-butilalanina, fenilglicina, ciclo-hexilalanina, β-alanina, fluoro-aminoácidos, aminoácidos desenhados como α-metil aminoácidos, C α-metil aminoácidos, N α-metil aminoácidos e análogos de aminoácidos em geral. Além disso, o aminoácido pode ser D (dextrógiro) ou L (levógiro).

Modificações pós-translacionais

[00252] Em certas modalidades, os construtos de anticorpo aqui descritos são modificados diferencialmente durante ou após a tradução.

[00253] O termo "modificado", como utilizado neste documento, refere-se a quaisquer alterações feitas a um determinado polipeptídeo, como alterações no comprimento do polipeptídeo, a sequência de aminoácidos, estrutura química, modificação co-tradução ou modificação pós-tradução de um polipeptídeo.

[00254] O termo "modificado pós-tradução" refere-se a qualquer modificação de um aminoácido natural ou não natural que ocorre a tal aminoácido após ele ter sido incorporado em uma cadeia polipeptídica. O termo abrange, apenas a título de exemplo, modificações cotraducionais *in vivo*, modificações cotraducionais *in vitro* (como em um sistema de tradução livre de células), modificações pós-tradução *in vivo* e modificações pós-tradução *in vitro*.

[00255] Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo podem compreender uma modificação que é: glicosilação, acetilação, fosforilação, amidação, derivatização por grupos de proteção / bloqueio conhecidos, clivagem proteolítica ou ligação a uma molécula de anticorpo ou construto de ligação ao antígeno ou outro ligando celular, ou um combinação dessas modificações. Em algumas modalidades, o construto de anticorpo é quimicamente modificado por técnicas conhecidas, incluindo, mas não se limitando, a clivagem química específica por brometo de cianogênio, tripsina, quimiotripsina, papaína, protease V8, $NaBH_4$; acetilação, formilação, oxidação, redução; e síntese metabólica na presença de tunicamicina.

[00256] Modificações pós-tradução opcionais adicionais de construtos de ligação a antígeno incluem, por exemplo, cadeias de carboidratos ligadas a N ou O, processamento de extremidades N-terminal ou C-terminal), ligação de frações químicas à estrutura de aminoácidos, modificações químicas de cadeias de carboidratos ligadas a N ou O, e adição ou deleção de um resíduo de metionina N-terminal como resultado da expressão da célula hospedeira procariótica. Os construtos de ligação ao antígeno aqui descritos são modificados com um marcador detectável, tal como um marcador enzimático, fluorescente, isotópico ou de afinidade para permitir a detecção e o isolamento da proteína. Em certas modalidades, exemplos de marcadores de enzimas adequados incluem peroxidase de rábano, fosfatase alcalina, beta-galactosidase ou acetilcolinesterase; exemplos de complexos de grupos prostéticos adequados incluem estreptavidina biotina e avidina / biotina; exemplos de materiais fluorescentes adequados incluem umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina fluoresceína, cloreto de dansil ou ficoeritrina; um exemplo de um material luminescente inclui luminol; exemplos de materiais bioluminescentes incluem luciferase, luciferina e aequorina; e exemplos de material radioativo adequado incluem iodo, carbono, enxofre, trítio, índio, tecnécio, tálio, gálio, paládio, molibdênio, xenônio, flúor.

[00257] Em algumas modalidades, os construtos de ligação ao antígeno aqui descritos podem ser anexados a quelantes macrocíclicos que se associam com íons radiometais.

[00258] Em algumas modalidades, os construtos de anticorpos descritos neste documento podem ser modificados por processos naturais, como processamento pós-tradução, ou por técnicas de modificação química que são bem conhecidas na técnica. Em certas modalidades, o mesmo tipo de modificação pode estar presente no mesmo ou em vários graus em vários locais em um determinado polipeptídeo. Em certas modalidades, os polipeptídeos dos construtos de ligação ao antígeno aqui descritos são ramificados, por exemplo, como resultado da ubiquitinação e, em algumas modalidades, são cíclicos, com ou sem ramificação. Os polipeptídeos cíclicos, ramificados e cíclicos ramificados são o resultado de processos naturais de pós-tradução ou feitos por métodos sintéticos. As modificações incluem acetilação, acilação, ADP-ribosilação, amidação, ligação covalente de flavina, ligação covalente de uma fração heme, ligação covalente de um nucleotídeo ou derivado de nucleotídeo, ligação covalente de um lipídeo ou derivado de lipídeo, ligação covalente de fosfotidilinositol, reticulação, ciclização, formação de ligação dissulfeto, desmetilação, formação de ligações cruzadas covalentes, formação de cisteína, formação de piroglutamato, formilação, gama-carboxilação, glicosilação, formação de âncora GPI, hidroxilação, iodação, metilação, miristilação, oxidação, peguilação, processamento proteolítico, fosforilação, prenilação, racemização, selenoilação, sulfatação, adição de aminoácidos mediada por RNA de transferência a proteínas, como arginilação e ubiquitinação. (Ver, por exemplo, PROTEINS--STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES, 2nd Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York (1993); POST-TRANSLATIONAL COVALENT MODIFICATION OF PROTEINS, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, pgs. 1-12 (1983); Seifter et al., Meth. Enzymol. 182:626-646 (1990); Rattan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci. 663:48-62 (1992)).

[00259] Em certas modalidades, os construtos de ligação ao antígeno aqui descritos podem ser ligados a suportes sólidos, que são particularmente úteis para imunoensaios ou purificação de polipeptídeos que estão ligados, que se ligam ou se associam com as proteínas aqui descritas. Esses suportes sólidos incluem, mas não estão limitados a, vidro, celulose, poliacrilamida, náilon, poliestireno, cloreto de polivinil ou polipropileno.

Modificações opcionais adicionais

[00260] Em uma modalidade, os construtos de anticorpo aqui descritos podem ser modificados adicionalmente (isto é, pela ligação covalente de vários tipos de moléculas) de modo que a ligação covalente não interfira ou afete a capacidade do construto de anticorpo 4-1BB x TAA de se ligar a 4-1BB ou ao TAA, ou afetar a capacidade do construto de anticorpo 4-1BB de se ligar a 4-1BB, ou afetar negativamente a estabilidade desses construtos de anticorpo. Da mesma forma, os construtos de anticorpo 4-1BB e os construtos de anticorpo FRα podem ser modificados por ligação covalente de modo que sua estabilidade ou capacidade de se ligar ao seu alvo não seja significativamente afetada. Tais modificações incluem, por exemplo, mas não como forma de limitação, glicosilação, acetilação, peguilação, fosforilação, amidação, derivatização por grupos de proteção / bloqueio conhecidos, clivagem proteolítica, ligação a um ligando celular ou outra proteína, etc. Qualquer uma das inúmeras modificações químicas pode ser realizada por técnicas conhecidas, incluindo, mas não se limitando a, clivagem química específica, acetilação, formilação, síntese metabólica de tunicamicina, etc.

[00261] Certas modalidades contemplam a conjugação do construto de anticorpo a uma fração de droga, por exemplo, uma toxina, um agente quimioterápico, um modulador imune ou um radioisótopo. Numerosos métodos de preparação de conjugados de anticorpo e droga (ADCs) são conhecidos na técnica. Os exemplos incluem métodos descritos na Patente U.S. 8.624.003 (método de pote), Patente U.S. 8.163.888 (uma etapa), e Patente U.S. 5.208.020 (método em duas etapas). Ver também, *Antibody-Drug Conjugates, Series: Methods in Molecular Biology*, Laurent Ducry (Ed.), Humana Press, 2013.

[00262] A fração da droga dos ADCs é tipicamente um composto ou fração com efeito citostático ou citotóxico. Em algumas modalidades, a droga compreendida pelo ADC é um agente citotóxico. O termo "agente citotóxico", como utilizado neste documento, refere-se a uma substância que inibe ou impede a função das células e / ou causa a destruição das células. O termo se destina a incluir isótopos radioativos (por exemplo, ^{211}At, ^{131}I, ^{125}I, ^{90}Y, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{153}Sm, ^{212}Bi, ^{32}P e ^{177}Lu), agentes quimioterapêuticos e toxinas, tais como toxinas de moléculas pequenas ou toxinas enzimaticamente ativas de bactérias, origem fúngica, vegetal ou animal, incluindo fragmentos e / ou variantes dos mesmos. Um versado na técnica apreciará que algumas dessas categorias de drogas se sobrepõem e, portanto, não se destinam a ser mutuamente

exclusivas. Por exemplo, as toxinas também podem ser consideradas como agentes quimioterápicos, no sentido de que são compostos químicos que podem ser usados para tratar o câncer. Em algumas modalidades, a droga compreendida pelo ADC é um análogo ou derivado de uma toxina de ocorrência natural. Exemplos de tais toxinas de ocorrência natural incluem, mas não estão limitados a, maitansinas, auristatinas, dolastatinas, tubulisinas, hemiasterlinas, caliqueamicinas, duocarmicinas, pirrolobenzodiazapenos, amatoxinas, camptotecinas, exotoxina de Pseudomonas (PE), toxina diftérica (DT), ricina A desglicosilada (dgA) e gelonina.

[00263] Em certas modalidades, a droga compreendida pelos ADCs é um agente de disrupção de microtúbulos ou um agente modificador de DNA. Exemplos de toxinas que são agentes de desregulação dos microtúbulos incluem, mas não estão limitados a, maitansinas, auristatinas, dolastatinas, tubulisinas, hemiasterlinas e análogos e derivados dos mesmos. Exemplos de toxinas que são agentes modificadores de DNA incluem, mas não estão limitados a, caliqueamicinas e outros antibióticos enedi-ina, duocarmicinas, pirrolobenzodiazapenos, amatoxinas, camptotecinas e análogos e derivados dos mesmos.

[00264] Maitansinoides exemplificativos incluem DM1 (mertansina, emtansina, N_2'-deacetil-N_2'-(3-mercapto-1-oxopropil)maitansina), DM3 (N_2'-deacetil-N_2'-(4-mercapto-1-oxopentil)maitansina) e DM4 (ravtansina, soravtansina, N_2'-deacetil-N_2'-(4-metil-4-mercapto-1-oxopentil)maitansina) (ver Publicação de Pedido de Patente U.S. US 2009/0202536). Outros exemplos de maitansinoides sintéticos e semissintéticos de ocorrência natural são descritos em Cassady *et al*., 2004, *Chem. Pharm. Bull.,* 52 (1): 1-26, e nas Patentes U.S. 4.256.746; 4.361.650; 4.307.016; 4.294.757; 4.424.219; 4.331.598; 4.364.866; 4.313.946; 4.315.929; 4.362.663; 4.322.348 e 4.371.533.

[00265] Dolastatinas e auristatinas exemplificativas incluem auristatina E (também conhecida na técnica como um derivado de dolastatina-10) e auristatina F, e análogos e derivados dos mesmos. Análogos de auristatina incluem, por exemplo, ésteres formados entre auristatina E e um cetoácido. Por exemplo, a auristatina E pode ser reagida com ácido para-acetil benzoico ou ácido benzoilvalérico para produzir auristatina EB (AEB) e auristatina EVB (AEVB), respectivamente. Outras auristatinas típicas incluem auristatina F fenilenodiamina (AFP), monometilauristatina F (MMAF) e monometilauristatina E (MMAE). A síntese e a estrutura de auristatinas exemplificativas são descritas nas Patentes U.S. 6.884.869; 7.098.308; 7.256.257; 7.423.116; 7.498.298 e 7.745.394. Outros exemplos

de análogos de auristatina, em particular análogos adequados para conjugação por meio do C-terminal da molécula de droga, incluem aqueles descritos nas Publicações Internacionais WO 2002/088172 e WO 2016/041082.

[00266] Hemiasterlinas e análogos e derivados de hemiasterina exemplificativos incluem aqueles descritos nas Publicações Internacionais WO 1996/33211 e WO 2004/026293; Patente U.S. 7.579.323 (que descreve o análogo de hemiasterlina, HTI-286) e Publicação Internacional WO 2014/144871**.**

[00267] Caliqueamicinas exemplificativas e análogos e derivados de caliqueamicina incluem aqueles descritos na Publicação Internacional WO 2015/063680 e Patentes U.S. 5.773.001; 5.714.586 e 5.770.701).

[00268] Duocarmicinas e análogos e derivados de duocarmicina exemplificativos incluem duocarmicinas de ocorrência natural, tais como duocarmicinas A, B1, B2, C1, C2, D e SA, bem como CC-1065, e análogos e derivados, tais como adozelesina, bizelesina e centanamicina. Outros análogos e derivados da caliqueamicina são descritos nas Patentes U.S. 4.912.227; 5.070.092; 5.084.468; 5.332.837; 5.641.780; 5.739.350 e 8.889.868.

[00269] Os pirrolobenzodiazapenos (PBD) exemplificativos incluem vários dímeros de PBD, tais como os descritos nas Patentes U.S. 6.884.799; 7.049.311; 7.511.032; 7.528.126; 7.557.099 e 9.056.914, e nas Publicações Internacionais WO 2007/085930, WO 2009/016516, WO 2011/130598, WO 2011/130613 e WO 2011/130616 e Publicação do Pedido de Patente U.S. US 2011/0256157.

[00270] Amatoxinas exemplificativas incluem a-Amanitina, b-Amanitina, g-Amanitina e e-Amanitina, e análogos e derivados dos mesmos. Várias amatoxinas e análogos de amatoxina foram descritos (ver, por exemplo, a Patente Europeia EP 1 859 811, Patente U.S. 9.233.173 e Publicação Internacional WO 2014/043403).

[00271] Camptotecinas exemplificativas (CPT) incluem irinotecano (CPT-11), SN-38 (7-etil-10-hidroxicamptotecina), 10-hidroxi camptotecina, topotecano, lurtotecano, 9-aminocamptotecina e 9-nitrocamptotecina. Outros exemplos de análogos e derivados de CPT incluem 7-butil-10-amino-camptotecina e 7-butil-9-amino-10,11-metilenodioxi-camptotecina (ver Publicação de Pedido de Patente U.S. US 2005/0209263) e derivados contendo anilina destes compostos, conforme descrito em Burke *et al*., 2009, *Bioconj. Chem.*20(6):1242-1250 e Sharkey *et al.,* 2012, *Mol. Cancer Ther.* 11:224-

234.

[00272] Em certas modalidades, a droga compreendida pelo ADC é um agente quimioterápico. Em algumas modalidades, a droga compreendida pelo ADC é uma antraciclina, como doxorrubicina, epirrubicina, idarrubicina, daunorrubicina (também conhecida como daunomicina), nemorrubicina ou um análogo ou derivado da mesma. A derivatização de daunorrubicina e doxorrubicina para conjugação a anticorpos foi descrita (ver, por exemplo, Kratz *et al.,* 2006, *Current Med. Chem.* 13:477-523, e Patente 6.630.579).

[00273] Exemplos adicionais de drogas para uso nos ADCs incluem inibidores de mTOR, como rapamicina (sirolimus) e análogos dos mesmos ("rapálogos"). Rapálogos são considerados compostos que estão estruturalmente relacionados à rapamicina que retêm a atividade inibidora de mTOR e incluem, por exemplo, ésteres, éteres, oximas, hidrazonas e hidroxilaminas de rapamicina, bem como compostos nos quais grupos funcionais na estrutura central da rapamicina foram modificados, por exemplo, por redução ou oxidação. Rapálogos exemplificativos incluem, mas não estão limitados a, temsirolimus (CC1779), tacrolimus (FK-506), everolimus (RAD001), deforolimus (AP23573), AZD8055 (AstraZeneca), e OSI-027 (OSI).

[00274] A droga selecionada pode ser conjugada ao construto de anticorpo com ou sem um ligante por qualquer um de uma variedade de métodos conhecidos na técnica. Normalmente, as drogas são conjugadas com resíduos de cisteína ou lisina no construto do anticorpo por meio de um ligante, que pode ser clivável ou não clivável. Métodos exemplificativos e ligantes são fornecidos em *Antibody-Drug Conjugates, Series: Methods in Molecular Biology*, Laurent Ducry (Ed.), Humana Press, 2013.

[00275] Em algumas modalidades, o construto de anticorpo pode ser expresso como proteínas de fusão compreendendo uma etiqueta para facilitar a purificação e / ou teste, etc. Conforme referido aqui, uma "etiqueta" é qualquer série adicionada de aminoácidos que são fornecidos em uma proteína no C-terminal, no N-terminal ou internamente que contribui para a identificação ou purificação da proteína. Etiquetas adequadas incluem, mas não estão limitadas a etiquetas conhecidas pelos versados na técnica como sendo úteis na purificação e / ou teste, como domínio de ligação de albumina (ABD), etiqueta His, etiqueta FLAG, glutationa-s-transferase, hemaglutinina (HA) e proteína de ligação à maltose. Essas proteínas marcadas também podem ser engenheiradas para compreender um sítio de clivagem, tal

como uma trombina, enteroquinase ou sítio de clivagem do fator X, para facilitar a remoção da etiqueta antes, durante ou após a purificação.

Métodos de geração de anticorpos

[00276] Se desejado, os anticorpos para um antígeno específico de interesse podem ser gerados por técnicas padrão e usados como base para a preparação de domínios de ligação ao antígeno dos construtos de anticorpo 4-1BB x TAA, por exemplo, para a preparação de domínios de ligação ao antígeno 4-1BB, FRα, NaPi2B, HER2, ormesotelina ou LIV1. Resumidamente, um anticorpo para um antígeno pode ser preparado imunizando o antígeno purificado em coelhos, preparando soro do sangue dos coelhos e absorvendo o soro para uma fração normal do plasma para produzir um anticorpo específico para o antígeno. As preparações de anticorpos monoclonais para o antígeno podem ser preparadas injetando a proteína purificada em camundongos, colhendo as células do baço e de nódulos linfáticos, fundindo essas células com células de mieloma de camundongo e usando as células de hibridoma resultantes para produzir o anticorpo monoclonal. Ambos os métodos são bem conhecidos na técnica. Em algumas modalidades, os anticorpos resultantes desses métodos podem ser humanizados conforme descrito em outro lugar neste documento.

[00277] Como alternativa à humanização, anticorpos humanos podem ser gerados. Por exemplo, animais transgênicos (por exemplo, camundongos) podem ser usados que são capazes, após imunização, de produzir um repertório completo de anticorpos humanos na ausência de produção de imunoglobulina endógena. Ver, por exemplo, Jakobovits et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:2551; Jakobovits et al., 1993, Nature 362:255-258; Bruggermann et al., 1993, Year in Immuno. 7:33; e Pat. U.S. 5.591.669; 5.589.369; 5.545.807; 6.075.181; 6.150.584; 6.657.103; e 6.713.610.

[00278] Alternativamente, a tecnologia de exibição de fago (ver, por exemplo, McCafferty et al., 1990, Nature 348: 552-553) pode ser usada para produzir anticorpos humanos e fragmentos de anticorpos *in vitro*, a partir de repertórios de genes de domínio variável de imunoglobulina de doadores não imunizados. A exibição de fagos pode ser executada em uma variedade de formatos; para a sua revisão, ver, por exemplo, Johnson and Chiswell, 1993, Current Opinion in Structural Biology 3:564-571. Os anticorpos humanos também podem ser gerados por células B ativadas *in vitro* (ver Patente U.S. 5.567.610 e 5.229.275). Novas sequências de anticorpos também podem ser geradas de novo usando plataformas como a plataforma HuTarg™ (Innovative Targeting Solutions Inc., Vancouver

Canadá).

[00279] A afinidade de anticorpos para um antígeno pode ser alterada de acordo com métodos conhecidos na técnica.

Testando os construtos de anticorpos

A capacidade dos construtos de anticorpo 4-1BB x TAA se ligarem a 4-1BB e o TAA pode ser testada de acordo com métodos conhecidos na técnica, incluindo ensaios de ligação ao antígeno ou ensaios de ligação celular. Os ensaios de ligação ao antígeno são realizados incubando o construto de anticorpo com antígeno (4-1BB ou TAA), purificado ou em uma mistura e avaliando a quantidade de construto de anticorpo 4-1BB x TAA ligado ao antígeno, em comparação com os controles. A quantidade de construto de anticorpo 4-1BB x TAA ligado ao antígeno pode ser avaliada por ELISA ou SPR (ressonância plasmônica de superfície), por exemplo. Os ensaios de ligação celular são realizados incubando o construto de anticorpo com células que expressam 4-1BB ou o TAA de interesse (tais células estão comercialmente disponíveis). A quantidade de construto de anticorpo 4-1BB x TAA ligado às células pode ser avaliada por citometria de fluxo, por exemplo, e comparada à ligação observada na presença de controles. Os métodos para realizar estes tipos de ensaios são bem conhecidos na técnica. Métodos semelhantes podem ser usados para avaliar a capacidade dos construtos de anticorpo 4-1BB de se ligarem a 4-1BB. Da mesma forma, a capacidade dos construtos de anticorpos FRα de se ligarem a FRα ou FRα purificados expressos em células pode ser determinada.

[00280] Os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA ou construtos de anticorpo 4-1BB também podem ser testados para determinar se eles promovem a ativação de células que expressam 4-1BB. Os ensaios adequados incluem os ensaios de cocultura descritos nos exemplos, tais como o ensaio de células Jurkat que expressam NF-κB-luciferase / 4-1BB ou o ensaio de cocultura de células T primárias. As linhagens celulares que expressam TAA adequadas para utilização nestes ensaios são facilmente identificadas por um versado na técnica. Por exemplo, para avaliar a capacidade de um construto de anticorpo 4-1BB x FRα de promover a ativação de 4-1BB na presença de células que expressam FRα, uma série de linhagem celular pode ser usada, por exemplo, mas não limitada a IGROV1, OVCAR3, OVKATE, NCI-H441, NCI-H661, NCI-H1975 ou HCC827. Estas linhagens celulares que expressam FRα podem ser divididas em $FR\alpha^{high}$, $FR\alpha^{mid}$ and $FR\alpha^{low}$ com base nos números

de receptores expressos nessas células, medidos pela ligação de um anticorpo de referência a essas células por meio de, por exemplo, experimentos quantitativos de citometria de fluxo. Em algumas modalidades, as células FRα^{high} podem expressar mais que cerca de 500.000 moléculas de FRα por célula, FRα^{mid} entre cerca de 200.000 e cerca de 500.000 moléculas de FRα por célula e FRα^{low} abaixo de cerca de 200.000 moléculas de FRα por célula. Em algumas modalidades, as células FRα^{neg} são aquelas em que a ligação de um anticorpo de referência a FRα não pode ser detectada por citometria de fluxo.

[00281] A eficácia *in vivo* dos construtos de anticorpo 4-1BB x TAA, construtos de anticorpo 4-1BB ou construtos de anticorpo FRα também podem ser avaliados por técnicas padrão. Por exemplo, o efeito dos construtos de anticorpos no crescimento do tumor pode ser examinado em vários modelos de tumor. Vários modelos animais adequados são conhecidos na técnica para testar a capacidade de terapias candidatas para tratar cânceres, tais como, por exemplo, câncer de mama ou câncer gástrico. Alguns modelos estão disponíveis comercialmente. Os modelos adequados incluem modelos singênicos ou de xenoenxerto (ver abaixo). O construto a ser testado é geralmente administrado após o tumor ter sido estabelecido no animal, mas em alguns casos, o construto pode ser administrado com a linhagem celular. O volume do tumor, a sobrevida do animal e / ou uma resposta que pode estar correlacionada com a função são monitorados a fim de determinar se o construto é capaz de tratar o tumor. O construto pode ser administrada por via intravenosa (i.v.), intraperitoneal (i.p.) ou subcutânea (s.c.). Os esquemas de dosagem e as quantidades variam, mas podem ser facilmente determinados pelo versado na técnica. Uma dosagem exemplificativa seria de 10 mg / kg uma vez por semana. O crescimento do tumor pode ser monitorado por procedimentos padrão. Por exemplo, quando células tumorais marcadas foram usadas, o crescimento do tumor pode ser monitorado por técnicas de imageamento apropriadas. Para tumores sólidos, o tamanho do tumor também pode ser medido por compasso de calibre. Outras respostas que podem ser indicativas da efic⟨cia do construto podem incluir aumentos ou diminuições nas respostas de citocinas ou quimiocinas sistêmicas ou localizadas (tais como, mas não se limitando a IFNγ, IL-2, TNFα, CXCL8, IP-10, RANTES), aumenta ou diminui o número de células imunes (como T, NK, NKT, B, DCs, macrófagos, neutrófilos), aumento ou diminuição da expressão da superfície chave, proteínas intracelulares ou nucleares sobre ou nas células imunes (como, mas não limitado a PD1, Tim3, Lag3, 4-1BB, CD163, EOMES, TOX) ou na superfície do tumor (PDL1). É

ainda contemplado que essas respostas também podem ser avaliadas em ensaios *in vitro* tais como, os ensaios de cocultura de células imunes aqui descritos e nos Exemplos, a fim de testar a atividade de construtos de anticorpos 4-1BB x TAA candidatos.

[00282] Modelos de tumor de camundongo *in vivo* podem ser modelos singênicos ou de xenoenxerto. Os modelos singênicos envolvem o enxerto de um tumor de um camundongo para outro, onde o fundo genético dos dois camundongos é suficientemente próximo para que o sistema imunológico do camundongo receptor não rejeite o tumor (Teicher, BA Tumor models in cancer research, Springer 2011). Isso pode ser feito diretamente de camundongo para camundongo ou por meio de uma linhagem celular estável em cultura. As linhagens celulares podem ser projetadas usando técnicas de biologia molecular padrão para expressar o TAA se não o fizerem naturalmente, o que permite o controle sobre os níveis de expressão.

[00283] Modelos de tumor de xenoenxerto envolvem o enxerto de um tumor de outra espécie (geralmente humana) em um camundongo. O camundongo normalmente rejeitaria o tumor como não próprio, mas foi projetado para não ter um sistema imunológico adaptativo funcional por um conjunto de mutações que impedem o desenvolvimento das células T, B e NK e prejudicam a função das células mieloides. As cepas comuns de camundongos que são adequadas para o enxerto de células tumorais humanas são os camundongos NSG™, NOG™ e NRG, que combinaram $Prkdc^{scid}$ ou $Rag1^{-/-}$ com mutações IL2rg em um fundo NOD (Morton et al, Cancer Research 2016;76:21 pp6153-6158). Esses camundongos podem ser implantados com tumores humanos, mas não possuem um sistema imunológico adaptativo. As células tumorais humanas podem ser provenientes de células que são estáveis em cultura de células (como OVCAR3, HCC827, IGROV1 ou H1975) ou de pacientes que tiveram seus tumores removidos. O sistema imunológico pode então ser recapitulado pela adição de PBMC, células T ou $CD34^{+}$ HSC de doadores humanos. Essas células imunes podem então reconstituir o hospedeiro com células T para atuar como efetores durante um experimento.

Análises de ligação competitiva e mapeamento de epítopos de sequências de anticorpos

[00284] Os epítopos 4-1BB ligados pelos construtos de anticorpo 4-1BB ou os epítopos ligados pelos construtos de anticorpo FRα aqui descritos podem ser determinados por análise de ligação competitiva padrão (Fendly et al, Cancer Research 50: 1550-1558

(1990)). Por exemplo, para 4-1BB, estudos de bloqueio cruzado podem ser feitos em anticorpos por fluorescência direta em células intactas engenheiradas para expressar 4-1BB usando métodos adequados para quantificar a fluorescência. Cada anticorpo de teste é conjugado com isotiocianato de fluoresceína (FITC), usando procedimentos estabelecidos (Wofsy et al, Selected Methods in Cellular Immunology, p. 287, Mishel and Schiigi (eds.) San Francisco: W.J. Freeman Co. (1980)). Os anticorpos são considerados como compartilhando um epítopo se cada um bloqueou a ligação do outro em 40% ou mais em comparação com um controle de anticorpo irrelevante e na mesma concentração de anticorpo. Usando este ensaio, um versado na técnica pode identificar outros anticorpos que se ligam ao mesmo epítopo como aqueles descritos neste documento. A análise de deleção pode ser conduzida para identificar a localização aproximada na sequência polipeptídica de 4-1BB dos epítopos antigênicos. De maneira semelhante, os epítopos ligados pelos domínios de ligação ao antígeno TAA do construto de anticorpo 4-1BB x TAA ou do construto de anticorpo FRα também podem ser identificados.

Composições Farmacêuticas

[00285] Certas modalidades se referem a composições farmacêuticas que compreendem um construto de anticorpo aqui descrito e um trasportador farmaceuticamente aceitável.

[00286] O termo "farmaceuticamente aceitável" significa aprovado por uma agência regulatória do governo federal ou estadual ou listado na Farmacopeia dos EUA ou outra farmacopeia geralmente reconhecida para uso em animais e, mais particularmente, em humanos.

[00287] O termo "transportador" refere-se a um diluente, adjuvante, excipiente, veículo ou combinação dos mesmos, com o qual o construto é administrado. Tais transportadores farmacêuticos podem ser líquidos estéreis, tais como água e óleos, incluindo os de origem animal, vegetal, de petróleo ou sintética, tal como óleo de amendoim, óleo de soja, óleo mineral, óleo de gergelim e semelhantes. Em alguns aspectos, o transportador é um transportador feito pelo homem não encontrado na natureza. A água pode ser usada como transportador quando a composição farmacêutica é administrada por via intravenosa. Soluções salinas e soluções aquosas de dextrose e glicerol também podem ser empregadas como transportadores líquidos, particularmente para soluções injetáveis. Excipientes farmacêuticos adequados incluem amido, glicose, lactose, sacarose, gelatina, malte, arroz,

farinha, giz, gel de sílica, estearato de sódio, monoestearato de glicerol, talco, cloreto de sódio, leite desnatado em pó, glicerol, propileno, glicol, água, etanol e semelhantes. A composição, se desejado, também pode conter pequenas quantidades de agentes umectantes ou emulsificantes, ou agentes tamponantes de pH. Exemplos de transportadores farmacêuticos adequados são descritos em "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E. W. Martin.

[00288] As composições farmacêuticas podem estar na forma de soluções, suspensões, emulsões, comprimidos, pílulas, cápsulas, pós, formulações de liberação sustentada e semelhantes. A composição pode ser formulada como um supositório, com aglutinantes e transportadores tradicionais, como triglicerídeos. As formulações orais podem incluir transportadores padrão, tais como qualidades farmacêuticas de manitol, lactose, amido, estearato de magnésio, sacarina de sódio, celulose, carbonato de magnésio e semelhantes.

[00289] As composições farmacêuticas conterão uma quantidade terapeuticamente eficaz do construto de anticorpo, juntamente com uma quantidade adequada de transportador, de modo a fornecer a forma de administração adequada a um paciente. A formulação deve ser adequada ao modo de administração.

[00290] Em certas modalidades, a composição que compreende o construto de anticorpo é formulada de acordo com procedimentos de rotina como uma composição farmacêutica adaptada para administração intravenosa a seres humanos. Normalmente, as composições para administração intravenosa são soluções em tampão aquoso isotônico estéril. Quando necessário, a composição também pode incluir um agente solubilizante e um anestésico local, como lidocaína, para aliviar a dor no local da injeção. Geralmente, os ingredientes são fornecidos separadamente ou misturados em forma de dosagem unitária, por exemplo, como um pó liofilizado seco ou concentrado sem água em um recipiente hermeticamente fechado, como uma ampola ou sachê indicando a quantidade de agente ativo. Quando a composição é para ser administrada por infusão, ela pode ser dispensada com um frasco de infusão contendo água estéril de grau farmacêutico ou solução salina. Quando a composição é administrada por injeção, uma ampola de água estéril para injeção ou solução salina pode ser fornecida para que os ingredientes possam ser misturados antes da administração.

[00291] Em certas modalidades, as composições aqui descritas são formuladas

como formas neutras ou salinas. Os sais farmaceuticamente aceitáveis incluem aqueles formados com ânions, tais como aqueles derivados de ácidos clorídrico, fosfórico, acético, oxálico, ácidos tartáricos, etc., e aqueles formados com cátions, tais como aqueles derivados de sódio, potássio, amônio, cálcio, hidróxido férrico isopropilamina, trietilamina, 2-etilamino etanol, histidina, procaína e semelhantes.

Métodos de uso de construtos de anticorpo

[00292] Em certas modalidades, é fornecido um método de tratamento de um câncer que compreende a administrar a um sujeito no qual tal tratamento, prevenção ou melhoria é desejado, um construto de anticorpo 4-1BB x TAA aqui descrito, em uma quantidade eficaz para tratar ou melhorar o câncer. Em outras modalidades, é fornecido um método de uso do construto de anticorpo 4-1BB x TAA na preparação de um medicamento para o tratamento, prevenção ou melhora do câncer em um sujeito. Em modalidades adicionais, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA podem ser usados para o tratamento de câncer em um sujeito em necessidade do mesmo. O construto de anticorpo 4-1BB e os construtos de anticorpo FRα também podem ser usados no tratamento de câncer, conforme descrito abaixo.

[00293] Em algumas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA, construto de anticorpo 4-1BB ou construto de anticorpo FRα pode ser usado em um sujeito para tratar, prevenir ou melhorar um câncer selecionado de câncer de mama, câncer de bexiga, câncer colorretal, cabeça e câncer de pescoço, câncer de fígado, câncer de pulmão, câncer de ovário, câncer de pâncreas, câncer de pele, câncer de próstata, câncer de rim ou câncer de tireoide. Em modalidades específicas, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA pode ser usado para tratar, prevenir ou melhorar o câncer de pulmão ou de ovário em um sujeito. Em certas modalidades, o construto de anticorpo 4-1BB x TAA pode ser usado no tratamento de tumores sólidos. Em modalidades em que 4-1BB x TAA é um construto de anticorpo 4-1BB x FRα, o construto pode ser usado para tratar, prevenir ou melhorar o câncer de pulmão ou de ovário em um sujeito. Em modalidades em que 4-1BB x TAA é um construto de anticorpo 4-1BB x NaPi2b, o construto pode ser usado para tratar, prevenir ou melhorar o câncer de pulmão em um sujeito.

[00294] O termo "sujeito" se refere a um animal, em algumas modalidades um mamífero, que é o objeto de tratamento, observação ou experimento. Um animal pode ser um humano, um primata não humano, um animal de companhia (por exemplo, cães, gatos e

semelhantes), animal de fazenda (por exemplo, vacas, ovelhas, porcos, cavalos e semelhantes) ou um animal de laboratório (por exemplo, ratos, camundongos, porquinhos-da-índia e semelhantes).

[00295] O termo "mamífero", como utilizado neste documento, inclui, mas não está limitado a humanos, primatas não humanos, caninos, felinos, murinos, bovinos, equinos e porcinos.

[00296] "Tratamento" ou "tratar" refere-se à intervenção clínica na tentativa de alterar o curso natural do indivíduo ou célula a ser tratada e pode ser realizada durante o curso da patologia clínica. Efeitos desejáveis de tratamento incluem prevenir a recorrência da doença, o alívio de sintomas, diminuir quaisquer consequências patológicas diretas ou indiretas da doença, prevenir a metástase, diminuir a taxa de progressão da doença, a melhoria ou paliação do estado de doença, e a remissão ou prognóstico melhorado. Em algumas modalidades, os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA aqui descritos são usados para atrasar o desenvolvimento de uma doença ou distúrbio em um sujeito. Em uma modalidade, os construtos e métodos de anticorpo 4-1BB x TAA aqui descritos efetuam a regressão do tumor em um sujeito. Em uma modalidade, os construtos e métodos de anticorpo 4-1BB x TAA aqui descritos afetam a inibição do crescimento do tumor / câncer em um sujeito.

[00297] O termo "quantidade eficaz", como utilizado neste documento, refere-se a essa quantidade de construto de anticorpo sendo administrada, que irá cumprir o objetivo do método recitado, por exemplo, aliviar até certo ponto um ou mais dos sintomas da doença, condição ou distúrbio sendo tratado. A quantidade da composição aqui descrita que será eficaz no tratamento, inibição e prevenção de uma doença ou distúrbio associado à expressão e / ou atividade aberrante de uma proteína terapêutica pode ser determinada por técnicas clínicas padrão. Além disso, os ensaios *in vitro* podem ser opcionalmente empregados para ajudar a identificar as faixas de dosagem ideais. A dose precisa a ser empregada na formulação também dependerá da via de administração e da gravidade da doença ou distúrbio, e deve ser decidida de acordo com o julgamento do médico e as circunstâncias de cada paciente. As dosagens eficazes são extrapoladas destas curvas de resposta à dosagem derivadas dos sistemas de teste de modelo de animal ou in vitro.

[00298] "Quantidade terapeuticamente eficaz", como utilizado neste documento, significa uma quantidade que produz o efeito desejado para o qual é

administrada. Em algumas modalidades, o termo se refere a uma quantidade que é suficiente, quando administrada a uma população que sofre ou é suscetível a uma doença, distúrbio e / ou condição de acordo com um regime de dosagem terapêutica, para tratar a doença, distúrbio e / ou condição. Em algumas modalidades, uma quantidade terapeuticamente eficaz é a que reduz a incidência e / ou gravidade e / ou retarda o início de um ou mais sintomas da doença, distúrbio e / ou condição. Os versados na técnica compreenderão que o termo "quantidade terapeuticamente eficaz" não requer, de fato, que um tratamento bem-sucedido seja alcançado em um indivíduo em particular. Em vez disso, uma quantidade terapeuticamente eficaz pode ser a quantidade que fornece uma determinada resposta farmacológica desejada em um número significativo de sujeitos quando administrada a pacientes em necessidade de tal tratamento. Em algumas modalidades, a referência a uma quantidade terapeuticamente eficaz pode ser uma referência a uma quantidade medida em um ou mais tecidos específicos (por exemplo, um tecido afetado pela doença, distúrbio ou condição) ou fluidos (por exemplo, sangue, saliva, soro, suor, lágrimas, urina, etc.). Aqueles versados na técnica apreciarão que, em algumas modalidades, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente ou terapia particular pode ser formulada e / ou administrada em uma dose única. Em algumas modalidades, um agente terapeuticamente eficaz pode ser formulado e / ou administrado em uma pluralidade de doses, por exemplo, como parte de um regime de dosagem.

[00299] O construto de anticorpo 4-1BB x TAA pode ser administrado a um sujeito. Vários sistemas de distribuição são conhecidos e podem ser usados para administrar uma formulação de construto de anticorpo aqui descrita, por exemplo, encapsulação em lipossomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capazes de expressar o composto, endocitose mediada por receptor (ver, por exemplo, Wu and Wu, J. Biol. Chem. 262:4429-4432 (1987)), construção de um ácido nucleico como parte de um retroviral ou outro vetor, etc. Os métodos de introdução incluem, mas não se limitam a, vias intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutânea, intranasal, epidural e oral. Os compostos ou composições também podem ser administrados por qualquer via conveniente, por exemplo, por infusão ou injeção de bolus, por absorção através de revestimentos epiteliais ou mucocutâneos (por exemplo, mucosa oral, mucosa retal e intestinal, etc.), e podem ser administrados em conjunto com outros agentes biologicamente ativos. A administração pode ser sistêmica ou local. Além disso, em certas modalidades, é desejável

introduzir as composições de construto de anticorpo aqui descritas no sistema nervoso central por qualquer via adequada, incluindo injeção intraventricular e intratecal; a injeção intraventricular pode ser facilitada por um cateter intraventricular, por exemplo, conectado a um reservatório, como um reservatório de Ommaya. A administração pulmonar também pode ser empregada, por exemplo, pelo uso de um inalador ou nebulizador, e formulação com um agente de formação de aerossóis.

[00300] Em uma modalidade específica, é desejável administrar os construtos de anticorpos, ou composições aqui descritas, localmente na área que necessita de tratamento; isto pode ser conseguido, por exemplo, e não por meio de limitação, infusão local durante a cirurgia, aplicação tópica, por exemplo, em conjunto com um curativo após a cirurgia, por injeção, por meio de um cateter, por meio de um supositório, ou por meio de um implante, sendo o referido implante de um material poroso, não poroso ou gelatinoso, incluindo membranas, tais como membranas sialásticas ou fibras. De preferência, ao administrar uma proteína, incluindo um construto de anticorpo, aqui descrito, deve-se ter cuidado ao usar materiais para os quais a proteína não absorve.

[00301] Em outra modalidade, os construtos ou composição de anticorpo podem ser distribuídos em uma vesícula, em particular um lipossoma (ver Langer, Science 249:1527-1533 (1990); Treat et al., in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365 (1989); Lopez-Berestein, ibid., pp. 317-327; ver geralmente ibid.)

[00302] Em ainda outra modalidade, os construtos ou composição de anticorpo podem ser distribuídos em um sistema de liberação controlada. Em uma modalidade, uma bomba pode ser usada (ver Langer, supra; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88:507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989)). Em outra modalidade, materiais poliméricos podem ser usados; (ver, Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61 (1983); ver também Levy et al., Science 228:190 (1985); During et al., Ann. Neurol. 25:351 (1989); Howard et al., J. Neurosurg. 71:105 (1989)). Em ainda outra modalidade, um sistema de liberação controlada pode ser colocado na proximidade do alvo terapêutico, por exemplo, o cérebro, exigindo assim apenas uma fração

da dose sistêmica (ver, por exemplo, Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, vol. 2, pp. 115-138 (1984)).

[00303] Em uma modalidade específica que compreende um ácido nucleico que codifica os construtos de anticorpo aqui descritos, o ácido nucleico pode ser administrado *in vivo* para promover a expressão de sua proteína codificada, construindo-o como parte de um vetor de expressão de ácido nucleico apropriado e administrando-o de modo que se torne intracelular, por exemplo, pelo uso de um vetor retroviral (ver Pat. U.S. 4.980.286), ou por injeção direta, ou pelo uso de bombardeio de micropartículas (por exemplo, uma arma genética; Biolistic, Dupont), ou revestimento com lipídeos ou receptores de superfície celular ou agentes de transfecção, ou por administração em ligação a um peptídeo semelhante homeobox ao que se sabe que entra no núcleo (ver, por exemplo, Joliot et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868 (1991)), etc. Alternativamente, um ácido nucleico pode ser introduzido intracelularmente e incorporado no DNA da célula hospedeira para expressão, por recombinação homóloga.

[00304] A quantidade da construto de anticorpo que será eficaz no tratamento, inibição ou prevenção de uma doença ou distúrbio pode ser determinada por técnicas clínicas padrão. Além disso, os ensaios *in vitro* podem ser opcionalmente empregados para ajudar a identificar as faixas de dosagem ideais. A dose precisa a ser empregada na formulação também dependerá da via de administração e da gravidade da doença ou distúrbio, e deve ser decidida de acordo com o julgamento do médico e as circunstâncias de cada paciente. As dosagens eficazes são extrapoladas destas curvas de resposta à dosagem derivadas dos sistemas de teste de modelo de animal ou in vitro.

[00305] Os construtos de anticorpos aqui descritos podem ser administrados sozinhos ou em combinação com outras formas alternativas de tratamentos ou terapia anticâncer (por exemplo, terapia de radiação, quimioterapia, terapia hormonal, imunoterapia, anticorpos biespecíficos e agentes antitumorais). Geralmente, a administração de produtos de uma espécie de origem ou reatividade de espécie (no caso de anticorpos) que é a mesma espécie do paciente é preferida.

[00306] Em algumas modalidades, o construto de anticorpo pode ser usado no tratamento de um paciente que foi submetido a uma ou mais formas alternativas de terapia anticâncer. Em algumas modalidades, o paciente teve uma recaída ou não respondeu a uma ou mais formas alternativas de terapia anticâncer. Em outras modalidades, o construto de

anticorpo é administrado a um paciente em combinação com uma ou mais formas alternativas de terapia anticâncer. Em outras modalidades, o construto de anticorpo é administrado a um paciente que se tornou refratário ao tratamento com uma ou mais formas alternativas de terapia anticâncer.

Kits e Artigos de Fabricação

[00307] Também descritos neste documento são kits compreendendo um ou mais construtos de anticorpo. Os componentes individuais do kit seriam embalados em recipientes separados e, associados a tais recipientes, podem ser um aviso na forma prescrita por uma agência governamental que regulamenta a fabricação, uso ou venda de produtos farmacêuticos ou biológicos, cujo aviso reflete a aprovação da agência de fabricação, uso ou venda. O kit pode conter opcionalmente instruções ou orientações que descrevem o método de uso ou regime de administração para o construto de anticorpo.

[00308] Quando um ou mais componentes do kit são fornecidos como soluções, por exemplo, uma solução aquosa ou uma solução aquosa estéril, o recipiente pode ser um inalante, seringa, pipeta, conta-gotas ou outro aparelho semelhante, a partir do qual a solução pode ser administrada a um sujeito ou aplicada e misturada com os outros componentes do kit.

[00309] Os componentes do kit também podem ser fornecidos na forma seca ou liofilizada e o kit pode conter adicionalmente um solvente adequado para reconstituição dos componentes liofilizados. Independentemente do número ou tipo de recipientes, os kits aqui descritos também podem compreender um instrumento para auxiliar na administração da composição a um paciente. Tal instrumento pode ser um inalante, dispositivo de pulverização nasal, seringa, pipeta, fórceps, colher medida, conta-gotas ou veículo de distribuição aprovado medicamente similar.

[00310] Certas modalidades se referem a um artigo de fabricação contendo materiais úteis para o tratamento de um paciente, conforme descrito neste documento. O artigo de fabricação compreende um recipiente e um rótulo ou bula em ou associado com o recipiente. Recipientes adequados incluem, por exemplo, garrafas, frascos, seringas, sacos de solução intravenosa, etc. Os recipientes podem ser formados de uma variedade de materiais como o vidro ou plástico. O recipiente contém uma composição que compreende o construto de anticorpo que está presente por si só ou combinado com outra composição eficaz para o tratamento do paciente e pode ter uma porta de acesso estéril (por exemplo, o

recipiente pode ser um saco de solução intravenosa ou um frasco com uma rolha perfurável por um agulha de injeção hipodérmica). O rótulo ou a bula indica que a composição é usada para tratar a condição de escolha. Em algumas modalidades, o artigo de fabricação pode compreender (a) um primeiro recipiente com uma composição nele contida, em que a composição compreende um construto de anticorpo aqui descrito; e (b) um segundo recipiente com uma composição nele contida, em que a composição no segundo recipiente compreende um outro agente citotóxico ou terapêutico. Em tais modalidades, o artigo de manufatura pode compreender ainda uma bula indicando que as composições podem ser usadas para tratar uma condição particular. Alternativamente, ou adicionalmente, o artigo de fabricação pode incluir adicionalmente um segundo (ou terceiro) recipiente, compreendendo um tampão farmaceuticamente aceitável, como água bacteriostática para injeção (BWFI), solução salina tamponada de fosfato, solução de Ringer e solução de dextrose. O artigo de fabricação pode, opcionalmente, incluir ainda outros materiais desejáveis do ponto de vista comercial e do usuário, incluindo outros tampões, diluentes, filtros, agulhas e seringas.

Polipeptídeos e polinucleotídeos

[00311] Conforme descrito neste documento, os construtos de anticorpo compreendem pelo menos um polipeptídeo. Certas modalidades se referem a polinucleotídeos que codificam tais polipeptídeos aqui descritos.

[00312] Os construtos de anticorpos, polipeptídeos e polinucleotídeos aqui descritos são tipicamente isolados. Como utilizado neste documento, "isolado" significa um agente (por exemplo, um polipeptídeo ou polinucleotídeo) que foi identificado e separado e / ou recuperado de um componente de seu ambiente de cultura de células natural. Os componentes contaminantes de seu ambiente natural são materiais que interferem no uso diagnóstico ou terapêutico do construto do anticorpo e podem incluir enzimas, hormônios e outros solutos proteicos ou não proteicos. Isolado também se refere a um agente que foi produzido sinteticamente, por exemplo, por meio de intervenção humana.

[00313] Os termos "polipeptídeo", "peptídeo" e "proteína" são usados de modo intercambiável aqui para se referir a um polímero de resíduos de aminoácidos. Isto é, uma descrição dirigida a um polipeptídeo se aplica igualmente a uma descrição de um peptídeo e uma descrição de uma proteína e vice-versa. Os termos aplicam-se a polímeros de aminoácidos de ocorrência natural, bem como polímeros de aminoácidos em que um ou mais resíduos de aminoácidos é um aminoácido codificado de forma não natural. Como

utilizado neste documento, os termos abrangem cadeias de aminoácidos de qualquer comprimento, incluindo proteínas de comprimento total, em que os resíduos de aminoácidos estão ligados por ligações peptídicas covalentes.

[00314] O termo "aminoácido" refere-se a aminoácidos de ocorrência natural e de ocorrência não natural, bem como a análogos de aminoácidos e miméticos de aminoácidos que funcionam de uma maneira semelhante aos aminoácidos de ocorrência natural. Os aminoácidos codificados naturalmente são os 20 aminoácidos comuns (alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutâmico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina e valina) e pirrolisina e selenocisteína. Análogos de aminoácidos referem-se a compostos que possuem a mesma estrutura química básica que um aminoácido natural, isto é, um carbono que está ligado a um hidrogênio, um grupo carboxil, um grupo amino e um grupo R, como, homoserina, norleucina, sulfóxido de metionina, metionina e metil sulfônio. Tais análogos têm grupos R modificados (tais como norleucina) ou espinhas dorsais peptídicas modificadas, mas retêm a mesma estrutura química básica que um aminoácido de ocorrência natural. A referência a um aminoácido inclui, por exemplo, L-aminoácidos proteogênicos de ocorrência natural; D-aminoácidos, aminoácidos quimicamente modificados, tais como variantes e derivados de aminoácidos; aminoácidos não proteogênicos de ocorrência natural, tais como β-alanina, ornitina, etc.; e compostos sintetizados quimicamente com propriedades conhecidas na técnica como sendo características de aminoácidos. Exemplos de aminoácidos de ocorrência não natural incluem, mas não estão limitados a, α-metil aminoácidos (por exemplo, α-metil alanina), D-aminoácidos, aminoácidos semelhantes a histidina (por exemplo, 2-amino-histidina, β-hidroxi-histidina, homo-histidina), aminoácidos com um metileno extra na cadeia lateral (aminoácidos "homo") e aminoácidos nos quais um grupo funcional de ácido carboxílico na cadeia lateral é substituído por um grupo de ácido sulfônico (por exemplo, ácido cisteico). A incorporação de aminoácidos não naturais, incluindo aminoácidos não nativos sintéticos, aminoácidos substituídos ou um ou mais D-aminoácidos nos construtos de anticorpo aqui descritos pode ser vantajosa de várias maneiras diferentes. Peptídeos contendo D-aminoácido, etc., exibem estabilidade aumentada in vitro ou in vivo em comparação com contrapartes contendo L-aminoácido. Assim, a construção de peptídeos, etc., incorporando D-aminoácidos pode ser particularmente útil quando uma maior estabilidade intracelular é

desejada ou necessária. Mais especificamente, os peptídeos D, etc., são resistentes a peptidases e proteases endógenas, proporcionando assim uma biodisponibilidade melhorada da molécula e tempos de vida prolongados in vivo quando tais propriedades são desejáveis. Além disso, os D-peptídeos, etc., não podem ser processados eficientemente para apresentação restrita de classe II do complexo principal de histocompatibilidade para células T auxiliares e, portanto, são menos propensos a induzir respostas imunes humorais em todo o organismo.

[00315] Os aminoácidos podem ser aqui referidos pelos seus símbolos de três letras vulgarmente conhecidos ou pelos símbolos de uma letra recomendados pela Comissão de Nomenclatura Bioquímica IUPAC-IUB. Os nucleotídeos, da mesma forma, podem ser referidos por seus códigos de letra única comumente aceitos.

[00316] Também estão incluídos aqui polinucleotídeos que codificam polipeptídeos dos construtos de anticorpos. O termo "polinucleotídeo" ou "sequência de nucleotídeos" destina-se a indicar um trecho consecutivo de duas ou mais moléculas de nucleotídeos. A sequência de nucleotídeos pode ser de origem genômica, cDNA, RNA, semissintética ou sintética, ou qualquer combinação das mesmas.

[00317] O termo "sequência de nucleotídeos" ou "sequência de ácido nucleico" se destina a indicar um trecho consecutivo de duas ou mais moléculas de nucleotídeos. A sequência de nucleotídeos pode ser de origem genômica, cDNA, RNA, semissintética ou sintética, ou qualquer combinação das mesmas.

[00318] "Célula", "célula hospedeira", "linhagem celular" e "cultura de células" são usados indistintamente neste documento e todos esses termos devem ser entendidos como incluindo a progênie resultante do crescimento ou cultura de uma célula. “Transformação” e “transfecção” são usadas indistintamente para se referir ao processo de introdução de uma sequência de ácido nucleico em uma célula.

[00319] O termo "ácido nucleico" refere-se a desoxirribonucleotídeos, desoxirribonucleosídeos, ribonucleotídeos ou ribonucleotídeos e polímeros dos mesmos na forma de fita simples ou dupla. A menos que especificamente limitado, o termo abrange ácidos nucleicos contendo análogos conhecidos de nucleotídeos naturais que têm propriedades de ligação semelhantes ao ácido nucleico de referência e são metabolizados de maneira semelhante aos nucleotídeos de ocorrência natural. A menos que especificamente limitado de outra forma, o termo também se refere a análogos de oligonucleotídeos incluindo

PNA (ácido peptidonucleico), análogos de DNA usados em tecnologia antissentido (fosforotioatos, fosforamidatos e semelhantes). Salvo indicação em contrário, uma sequência de ácido nucleico específica também inclui implicitamente variantes modificadas conservativamente (incluindo, mas não limitado a, substituições de códons degeneradas) e sequências complementares bem como a sequência explicitamente indicada. Especificamente, as substituições de códons degeneradas podem ser alcançadas gerando sequências nas quais a terceira posição de um ou mais códons selecionados (ou todos) é substituída com base mista e / ou resíduos de desoxinossina (Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985); Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994)).

[00320] "Variantes modificadas de forma conservadora" se aplicam às sequências de aminoácidos e de ácido nucleico No que diz respeito a sequências de ácido nucleico particulares, "variantes modificadas de forma conservadora" refere-se aos ácidos nucleicos que codificam sequências de aminoácidos idênticas ou essencialmente idênticas, ou onde o ácido nucleico não codifica uma sequência de aminoácidos, a sequências essencialmente idênticas. Devido à degeneração do código genético, um grande número de ácidos nucleicos funcionalmente idênticos codifica qualquer proteína. Por exemplo, os códons GCA, GCC, GCG e GCU codificam o aminoácido alanina. Assim, em cada posição onde uma alanina é especificada por um códon, o códon pode ser alterado para qualquer um dos códons correspondentes descritos sem alterar o polipeptídeo codificado. Tais variações de ácido nucleico são "variações silenciosas", que são uma espécie de variações modificadas conservadoramente. Cada sequência de ácido nucleico aqui que codifica um polipeptídeo também abrange todas as variações silenciosas possíveis do ácido nucleico. Um versado na técnica reconhecerá que cada códon em um ácido nucleico (exceto AUG, que normalmente é o único códon para metionina, e TGG, que normalmente é o único códon para triptofano) pode ser modificado para produzir uma molécula funcionalmente idêntica. Consequentemente, cada variação silenciosa de um ácido nucleico que codifica um polipeptídeo está implícita em cada sequência descrita.

[00321] Quanto às sequências de aminoácidos, um versado na técnica reconhecerá que substituições, deleções ou adições individuais a um ácido nucleico, peptídeo, polipeptídeo ou sequência de proteína que altera, adiciona ou exclui um único aminoácido ou uma pequena porcentagem de aminoácidos na sequência codificada é uma

"variante modificada conservativamente", em que a alteração resulta na deleção de um aminoácido, adição de um aminoácido ou substituição de um aminoácido por um aminoácido quimicamente semelhante.

[00322] As tabelas de substituições conservativas que fornecem aminoácidos funcionalmente semelhantes são conhecidas dos versados na técnica. Essas variantes modificadas de forma conservativa são adicionais e não excluem variantes polimórficas, homólogos interespécies e alelos aqui descritos. Cada um dos oito grupos a seguir contém aminoácidos que são substituições conservativas entre si: 1) Alanina (A), Glicina (G); 2) Ácido aspártico (D), Ácido glutâmico (E); 3) Asparagina (N), Glutamina (Q); 4) Arginina (R), Lisina (K); 5) Isoleucina (I), Leucina (L), Metionina (M), Valina (V); 6) Fenilalanina (F), Tirosina (Y), Triptofano (W); 7) Serina (S), Treonina (T); e [0139] 8) Cisteína (C), Metionina (M) (ver, por exemplo, Creighton, Proteins: Structures and Molecular Properties (W H Freeman & Co.; 2nd edition (December 1993)).

[00323] O termo "idêntico" no contexto de dois ou mais ácidos nucleicos ou sequências polipeptídicas, refere-se a duas ou mais sequências ou subsequências que são iguais. As sequências são "substancialmente idênticas" se tiverem uma porcentagem de resíduos de aminoácidos ou nucleotídeos que são iguais (ou seja, cerca de 60% de identidade, cerca de 65%, cerca de 70%, cerca de 75%, cerca de 80%, cerca de 85%, cerca de 90%, ou cerca de 95% de identidade em uma região especificada), quando comparada e alinhada para correspondência máxima em uma janela de comparação, ou região designada como medida usando um dos seguintes algoritmos de comparação de sequência (ou outros algoritmos disponíveis para pessoas de habilidade comum na técnica) ou por alinhamento manual e inspeção visual. Esta definição também se refere ao complemento de uma sequência de teste. A identidade pode existir ao longo de uma região que tem pelo menos cerca de 50 aminoácidos ou nucleotídeos de comprimento, ou ao longo de uma região que tem 75-100 aminoácidos ou nucleotídeos de comprimento, ou, quando não especificado, ao longo de toda a sequência de um polinucleotídeo ou polipeptídeo. Um polinucleotídeo que codifica um polipeptídeo aqui descrito, incluindo homólogos de espécies diferentes da humana, pode ser obtido por um processo que compreende as etapas de triagem de uma biblioteca sob condições de hibridação rigorosas com uma sonda marcada tendo uma sequência de polinucleotídeo aqui descrita ou um fragmento da mesma, e isolamento cDNA de comprimento completo e clones genômicos contendo a referida sequência polinucleotídica.

Essas técnicas de hibridação são bem conhecidas do versado na técnica.

[00324] Para comparação de sequência, tipicamente uma sequência atua como uma sequência de referência a qual as sequências de teste são comparadas. Ao usar um algoritmo de comparação de sequência, as sequências de teste e de referência são inseridas em um computador, as coordenadas de subsequência são designadas, se necessário, e os parâmetros do programa de algoritmo de sequência são designados. Os parâmetros do programa padrão podem ser usados, ou parâmetros alternativos podem ser designados. O algoritmo de comparação de sequência calcula então as porcentagens de identidade de sequência para as sequências de teste relativas à sequência de referência, com base nos parâmetros do programa.

[00325] Uma "janela de comparação", como utilizado neste documento, inclui referência a um segmento de qualquer um do número de posições contíguas selecionadas do grupo que consiste em 20 a 600, usualmente cerca de 50 a cerca de 200, mais geralmente cerca de 100 a cerca de 150 em que uma sequência pode ser comparada com uma sequência de referência do mesmo número de posições contíguas após as duas sequências serem alinhadas de forma ideal. Os métodos de alinhamento de sequências para comparação são conhecidos pelos versados na técnica. O alinhamento ideal de sequências para comparação pode ser conduzido, incluindo, mas não se limitando a, pelo algoritmo de homologia local de Smith and Waterman (1970) Adv. Appl. Math. 2:482c, pelo algoritmo de alinhamento de homologia de Needleman and Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48:443, pela busca por método de similaridade de Pearson and Lipman (1988) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444, por implementações computadorizadas desses algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA e TFASTA no Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.), ou por alinhamento manual e inspeção visual (ver, por exemplo, Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology (1995 supplement)).

[00326] Um exemplo de um algoritmo que é adequado para determinar a porcentagem de identidade de sequência e similaridade de sequência são os algoritmos BLAST e BLAST 2.0, que são descritos em Altschul et al. (1997) Nuc. Acids Res. 25:3389-3402, and Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410, respectivamente. O software para realizar análises BLAST está publicamente disponível através do National Center for Biotechnology Information disponível na World Wide Web em ncbi.nlm.nih.gov. Os parâmetros do algoritmo BLAST W, T e X determinam a sensibilidade e velocidade do

alinhamento. O programa BLASTN (para sequências de nucleotídeos) usa como padrão um comprimento de palavra (W) de 11, uma expectativa (E) ou 10, M = 5, N = -4 e uma comparação de ambas as fitas. Para sequências de aminoácidos, o programa BLASTP usa como padrão um comprimento de palavra de 3 e a expectativa (E) de 10 e a matriz de pontuação BLOSUM62 (ver Henikoff and Henikoff (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915) alinhamentos (B) de 50, expectativa (E) de 10, M = 5, N = -4 e uma comparação de ambas as vertentes. O algoritmo BLAST é normalmente executado com o filtro de “baixa complexidade” desligado.

[00327] O algoritmo BLAST também realiza uma análise estatística da similaridade entre duas sequências (ver, por exemplo, Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787). Uma medida de similaridade fornecida pelo algoritmo BLAST é a menor probabilidade de soma (P (N)), que fornece uma indicação da probabilidade pela qual uma correspondência entre duas sequências de nucleotídeos ou aminoácidos ocorreria por acaso. Por exemplo, um ácido nucleico é considerado semelhante a uma sequência de referência se a menor probabilidade de soma em uma comparação do ácido nucleico de teste com o ácido nucleico de referência for menor que cerca de 0,2, ou menor que cerca de 0,01, ou menor que cerca de 0,001.

[00328] Como utilizado neste documento, o termo "engenheiro" e variações gramaticais do mesmo são considerados como incluindo qualquer manipulação de uma estrutura de peptídeo ou as modificações pós-tradução de um polipeptídeo de ocorrência natural ou recombinante ou fragmento do mesmo. A engenharia inclui modificações da sequência de aminoácidos, do padrão de glicosilação ou do grupo da cadeia lateral de aminoácidos individuais, bem como combinações dessas abordagens. As proteínas projetadas são expressas e produzidas por técnicas padrão de biologia molecular.

[00329] Diz-se que um derivado ou variante de um polipeptídeo compartilha "homologia" ou é "homólogo" com o polipeptídeo se as sequências de aminoácidos do derivado ou variante têm pelo menos 50% de identidade com uma sequência de 100 aminoácidos do polipeptídeo original. Em certas modalidades, o derivado ou variante é pelo menos 75% igual ao do polipeptídeo ou de um fragmento do polipeptídeo com o mesmo número de resíduos de aminoácidos que o derivado. Em várias modalidades, o derivado ou variante é pelo menos 85%, 90%, 95% ou 99% igual ao do polipeptídeo ou de um fragmento do polipeptídeo com o mesmo número de resíduos de aminoácidos que o derivado.

[00330] Em alguns aspectos, um construto de anticorpo compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 ou 100% idêntica a uma sequência de aminoácidos relevante ou fragmento da mesma estabelecida nas Tabelas ou Números de Acessão aqui divulgados. Em alguns aspectos, um construto de anticorpo isolado compreende uma sequência de aminoácidos codificada por um polinucleotídeo que é pelo menos 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 ou 100% idêntica a uma sequência de nucleotídeos relevante ou fragmento da mesma apresentada nas Tabelas ou Números de Acessão divulgados neste documento.

Modalidades

A1. Um construto de anticorpo compreendendo:

a) um primeiro domínio de ligação 4-1BB que se liga a um domínio extracelular 4-1BB (4-1BB ECD), e

b) um domínio de ligação ao antígeno associado ao tumor (TAA) (domínio de ligação ao antígeno TAA) que se liga a um TAA,

em que o primeiro domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime.

A2. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade A1, em que o primeiro domínio de ligação 4-1BB é um primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ou um ligando 4-1BB.

A3. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade A2, em que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB se liga a um primeiro epítopo de 4-1BB ECD.

A4. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades A1 a A3, compreende ainda um segundo domínio de ligação 4-1BB.

A5. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade A4, em que o segundo domínio de ligação 4-1BB é um segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB.

A6. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade A5, em que o segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB se liga a um segundo epítopo de 4-1BB ECD.

A7. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade A5 ou A6, em que o primeiro epítopo de 4-1BB ECD é o mesmo que o segundo epítopo de 4-1BB ECD.

A8. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade A5 ou A6, em que o

primeiro epítopo de 4-1BB ECD é diferente do segundo epítopo de 4-1BB ECD.

A9. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades A4 a A8, em que o primeiro ou o segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB se liga ao 4-1BB humano e cynomolgus.

A10. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades A4 a A9, em que o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB se liga ao domínio 1 ou domínio 2 de 4-1BB.

A11. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades A4 a A9, em que o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB se liga a outros domínios que não 3 e 4 ou 4-1BB.

A12. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades A1 a A9, em que o primeiro domínio de ligação 4-1BB é um primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreendendo uma sequência variável da cadeia pesada compreendendo três CDRs e uma sequência variável da cadeia leve compreendendo três CDRs e a sequência variável da cadeia pesada e a sequência variável da cadeia leve são de qualquer uma das variantes v28726, v28727, v28728, v28730, v20022, v28700, v28704, v28705, v28706, v28711, v28712, v28713, v20036, v28696, v28697, v28698, v28701, v28702, v28703, v28707, v20023, v28683, v28684, v28685, v28686, v28687, v28688, v28689, v28690, v28691, v28692, v28694 ou v28995.

A13. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades A4 a A12, em que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e / ou o segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB estão em um formato Fab.

A14. O construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades A4 a A12, em que um do primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ou o segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB está em um formato scFv.

A15. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades A1 a A14, em que o domínio de ligação ao antígeno TAA é um domínio de ligação ao antígeno receptor de folatoα (FRα), um domínio de ligação ao antígeno de Solute Carrier Family 34 Membro 2 (NaPi2b), um domínio de ligação ao antígeno HER2, um domínio de ligação ao antígeno da mesotelina ou um domínio de ligação ao antígeno de Solute Carrier Family 39 Membro 6 (LIV-1).

A16. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades A1

a A15, em que o domínio de ligação ao antígeno TAA é um domínio de ligação ao antígeno FRα.

A17. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade A16, em que o de ligação ao antígeno FRα compreende as três CDRs da cadeia pesada e as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 8K22 ou 1H06.

A18. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade A17, em que o domínio de ligação ao antígeno FRα é um domínio de ligação ao antígeno humano ou humanizado.

A19. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades A1 a A18, em que o domínio de ligação ao antígeno TAA está em um formato scFv.

A20. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades A1 a A18, em que o domínio de ligação ao antígeno TAA está em um formato Fab.

A21. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades A1 a A20, em que o andaime é um construto Fc dimérico tendo um primeiro polipeptídeo Fc e um segundo polipeptídeo Fc, cada polipeptídeo Fc compreendendo uma sequência CH3, ou em que o andaime é um ligante ou um polipeptídeo de albumina.

A22. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade A21, em que o andaime é um construto Fc heterodimérico tendo um primeiro polipeptídeo Fc que é diferente do segundo polipeptídeo Fc, e em que as sequências CH3 do primeiro polipeptídeo Fc e do segundo polipeptídeo Fc compreendem substituições de aminoácidos que promover a formação de um Fc heterodimérico.

A23. O construto de anticorpo de acordo com a modalidade A22, em que:

a) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T350V_L351Y_F405A_Y407V e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T350V_T366L_K392L_T394W;

b) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T350V_T366L_K392M_T394W e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T350V_L351Y_F405A_Y407V;

c) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos L351Y_F405A_Y407V e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T366L_K392M_T394W;

d) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos

L351Y_F405A_Y407V e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T366L_K392L_T394W; ou

e) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos L351Y_S400E_F405A_Y407V e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T366I_N390R_K392M_T394W,

em que a numeração de resíduos está de acordo com o sistema de numeração EU.

A24. O construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades A21 a A23, compreendendo ainda uma ou mais modificações de aminoácidos que reduzem a função efetora.

A25. O construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades A21 a A24, em que

o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB está ligado ao terminal N do primeiro polipeptídeo Fc e o domínio de ligação ao antígeno TAA está ligado ao terminal C do primeiro polipeptídeo Fc.

A26. O construto de anticorpo de acordo com a modalidade A25, compreendendo ainda um segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB está ligado ao terminal N do segundo polipeptídeo Fc.

A27. Um construto de anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga especificamente a 4-1BB, compreendendo: uma sequência variável da cadeia pesada compreendendo três CDRs e a sequência variável da cadeia leve compreendendo três CDRs e a sequência variável da cadeia pesada e a sequência variável da cadeia leve é de qualquer uma das variantes v28726, v28727, v28728, v28730, v20022, v28700, v28704, v28705, v28706, v28711, v28712, v28713, v20036, v28696, v28697, v28698, v28701, v28702, v28703, v28707, v20023, v28683, v28684, v28685, v28686, v28687, v28688, v28689, v28690, v28691, v28692, v28694 ou v28995.

A28. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade A27, compreendendo uma sequência VH e uma sequência VL com pelo menos 85% de identidade de sequência com as sequências VH e VL de qualquer uma das variantes v28726, v28727, v28728, v28730, v20022, v28700, v28704, v28705, v28706, v28711, v28712, v28713, v20036, v28696, v28697, v28698, v28701, v28702, v28703, v28707, v20023, v28683, v28684, v28685, v28686, v28687, v28688, v28689, v28690, v28691, v28692, v28694, ou v28995.

A29. O construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades A1 a A28, conjugado a uma droga.

A30. Uma composição farmacêutica que compreende o construto de anticorpo de qualquer uma das modalidades A1 a A29.

A31. Um ou mais ácidos nucleicos que codificam o construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades A1 a A28.

A32. Um ou mais vetores compreendendo um ou mais ácidos nucleicos de acordo com a modalidade A31.

A33. Uma célula isolada compreendendo um ou mais ácidos nucleicos de acordo com a modalidade A31, ou um ou mais vetores de acordo com a modalidade A32.

A34. Um método de preparação do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades A1 a A29, compreendendo cultivar a célula isolada da modalidade A33 sob condições adequadas para expressar o construto de anticorpo e purificar o construto de anticorpo.

A35. Um método de tratamento de um sujeito com câncer, compreendendo administrar ao sujeito uma quantidade eficaz do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades A1 a A29.

A36. Uso de uma quantidade eficaz do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades A1 a A29 para o tratamento de câncer em um sujeito em necessidade do mesmo.

A37. Uso do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades A1 a A29 na preparação de um medicamento para o tratamento do câncer.

A38. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades A1 a A29, para uso no tratamento de câncer em um sujeito.

B1.Um construto de anticorpo compreendendo:

a) um primeiro domínio de ligação 4-1BB que se liga a um domínio extracelular 4-1BB (4-1BB ECD), e

b) um primeiro domínio de ligação ao antígeno associado ao tumor (TAA) (domínio de ligação ao antígeno TAA) que se liga a um TAA,

em que o primeiro domínio de ligação 4-1BB e o primeiro domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime.

B2. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade B1, em que o

primeiro domínio de ligação 4-1BB é um primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB.

B3. O construto, de acordo com a modalidade B1 ou B2, em que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB é derivado de um anticorpo agonístico anti-4-1BB.

B4. O construto de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B3, em que:

a) o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB na forma monovalente tem um KD para 4-1BB humano entre cerca de 1μM e 100pM; e / ou

b) o construto de anticorpo 4-1BB x TAA se liga a uma ou mais linhagens de células que expressam TAA conforme determinado por citometria de fluxo; e / ou

c) o construto de anticorpo 4-1BB x TAA se liga ao 4-1BB humano conforme medido por SPR e se liga ao TAA conforme medido por SPR; e / ou

d) o construto de anticorpo 4-1BB x TAA estimula a atividade de 4-1BB em células T, conforme medido pela produção de citocinas, na presença de células que expressam TAA; e / ou

e) o construto de anticorpo 4-1BB x TAA se liga a células que expressam 4-1BB e se liga a células que expressam TAA conforme medido por citometria de fluxo; e / ou

f) os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA são capazes de estimular a sinalização de 4-1BB em células que expressam 4-1BB na presença de células que expressam TAA.

B5. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B4, em que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreende: a) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 1C3 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 1C3; b) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 1C8 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 1C8; c) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 1G1 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 1G1; d) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 2E8 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 2E8; e) um domínio variável da cadeia pesada

compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 3E7 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 3E7; f) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 4E6 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 4E6; g) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 5G8 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 5G8; ou h) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 6B3 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 6B3.

B6. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B5, em que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB é um domínio de ligação ao antígeno humano ou humanizado.

B7. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade B6, em que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreende:

a) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28726 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28726;

b) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28727 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28727;

c) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28728 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28728;

d) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28730 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28730;

e) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28700 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28700;

f) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28704 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28704;

g) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28705 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28705;

h) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28706 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28706;

i) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28711 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28711;

j) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28712 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28712;

k) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28713 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28713;

l) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28696 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28696;

m) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28697 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28697;

n) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28698 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28698;

o) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28701 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28701;

p) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28702 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28702;

q) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28703 e uma sequência de domínio variável da cadeia

leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28703;

r) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28707 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28707;

s) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28683 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28683;

t) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28684 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28684;

u) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28685 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28685;

v) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28686 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28686;

w) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28687 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28687;

x) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28688 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28688;

y) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28689 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28689;

z) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28690 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28690;

aa) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28691 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28691;

ab) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos

85% idêntica à sequência VH de v28692 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28692;

ac) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28694 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28694; ou

ad) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28695 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28695;

B8. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B7, compreende ainda um segundo domínio de ligação 4-1BB.

B9. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B8, em que o segundo domínio de ligação 4-1BB é um segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB.

B10. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade B9, em que o segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB é o mesmo que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB.

B11. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade B10, em que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e / ou o segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB estão em um formato Fab.

B12. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B11, em que o domínio de ligação ao antígeno TAA é um domínio de ligação ao antígeno receptor de folato-α (FRα) um domínio de ligação ao antígeno de Solute Carrier Family 34 Membro 2 (NaPi2b), um domínio de ligação ao antígeno HER2, um domínio de ligação ao antígeno da mesotelina ou um domínio de ligação ao antígeno de Solute Carrier Family 39 Membro 6 (LIV-1).

B13. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B12, em que o construto de anticorpo compreende um segundo domínio de ligação ao antígeno TAA.

B14. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade B13, em que o primeiro e o segundo domínio de ligação ao antígeno TAA se ligam ao mesmo TAA.

B15. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B14, em que o primeiro domínio de ligação ao antígeno TAA é um domínio de ligação

ao antígeno FRα.

B16. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade B15, em que o domínio de ligação ao antígeno FRα compreende: a) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 8K22 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 8K22; ou b) domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 1H06 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 1H06.

B17. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade B16, em que o domínio de ligação ao antígeno FRα é um domínio de ligação ao antígeno humano ou humanizado.

B18. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade B17, em que o domínio de ligação ao antígeno FRα compreende:

a) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23794 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23794;

b) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23795 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23795;

c) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23796 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23796;

d) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23797 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23797;

e) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23798 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23798;

f) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23799 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23799;

g) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos

85% idêntica à sequência VH de v23800 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23800;

h) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23801 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23801;

i) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23802 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23802;

j) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23803 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23803;

k) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23804 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23804;

l) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23805 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23805;

m) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23806 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23806;

n) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23807 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23807;

o) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23808 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23808;

p) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23809 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23809;

q) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23810 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23810;

r) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23811 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23811;

s) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23812 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23812;

t) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23813 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23813;

u) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23814 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23814;

v) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23815 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23815;

w) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23816 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23816;

x) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23817 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23817; ou

y) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23818 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23818.

B19. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B18, em que o domínio de ligação ao antígeno TAA está em um formato scFv.

B20. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B18, em que o domínio de ligação ao antígeno TAA está em um formato Fab.

B21. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B20, em que o andaime é um construto Fc dimérico tendo um primeiro polipeptídeo Fc e um segundo polipeptídeo Fc, cada polipeptídeo Fc compreendendo uma sequência CH3, ou em que o andaime é um ligante ou um polipeptídeo de albumina.

B22. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade B21, em que o andaime é um construto Fc heterodimérico tendo um primeiro polipeptídeo Fc que é diferente do segundo polipeptídeo Fc, e em que as sequências CH3 do primeiro polipeptídeo Fc e do segundo polipeptídeo Fc compreendem substituições de aminoácidos que promover a formação de um Fc heterodimérico.

B23. O construto de anticorpo de acordo com a modalidade B22, em que:

a) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T350V_L351Y_F405A_Y407V e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T350V_T366L_K392L_T394W;

b) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T350V_T366L_K392M_T394W e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T350V_L351Y_F405A_Y407V;

c) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos L351Y_F405A_Y407V e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T366L_K392M_T394W;

d) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos L351Y_F405A_Y407V e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T366L_K392L_T394W; ou

e) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos L351Y_S400E_F405A_Y407V e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T366I_N390R_K392M_T394W,

em que a numeração de resíduos está de acordo com o sistema de numeração EU.

B24. O construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades B21 ou B23, compreendendo ainda uma ou mais modificações de aminoácidos que reduzem a função efetora.

B25. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade B24, em que uma ou mais modificações de aminoácidos são L234A, L235A e D265S, em que a numeração dos resíduos está de acordo com o sistema de numeração EU.

B26. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B25, em que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB está ligado ao terminal N do primeiro polipeptídeo Fc e o primeiro domínio de ligação ao antígeno TAA está ligado ao terminal C do primeiro polipeptídeo Fc.

B27. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B25, em que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB está ligado ao terminal N do primeiro polipeptídeo Fc e o primeiro domínio de ligação ao antígeno TAA está ligado ao terminal C do segundo polipeptídeo Fc

B28. O construto de anticorpo de acordo com a modalidade B26 ou B27, compreendendo ainda um segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao terminal N do segundo polipeptídeo Fc.

B29. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B25, compreende um primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao terminal N do primeiro polipeptídeo Fc, um segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao terminal N do segundo polipeptídeo Fc, um primeiro domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao terminal C do primeiro polipeptídeo Fc e um segundo domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao terminal C do segundo polipeptídeo Fc.

B30. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B25, compreende um primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao terminal N do primeiro polipeptídeo Fc ou ao terminal N do segundo polipeptídeo Fc, uma primeira ligação ao antígeno TAA domínio ligado ao terminal C do primeiro polipeptídeo Fc e um segundo domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao terminal C do segundo polipeptídeo Fc.

B31. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B30, em que o primeiro e ou o segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreende um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 1G1 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 1G1, e o primeiro e / ou o segundo domínio de ligação ao antígeno FRα compreende um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 8K22 e um domínio variável d cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve de anticorpo 8K22.

B32. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade B31, em que o primeiro e o segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreende uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência de VH de v28614 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28614, e o primeiro e / ou segundo domínio de ligação

ao antígeno FRα compreende uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23807 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência de VL de v23807.

B33. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade B32, compreende uma primeira sequência polipeptídica da cadeia pesada conforme estabelecido na SEQ ID NO: 353, uma segunda sequência polipeptídica da cadeia pesada conforme estabelecido na SEQ ID NO: 349 e uma sequência polipeptídica da cadeia leve conforme estabelecido na SEQ ID NO: 346.

B34. O construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B33, conjugado a uma droga.

B35. Uma composição farmacêutica que compreende o construto de anticorpo de qualquer uma das modalidades B1 a B33.

B36. Um ou mais ácidos nucleicos que codificam o construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B34.

B37. Um ou mais vetores compreendendo um ou mais ácidos nucleicos de acordo com a modalidade B36.

B38. Uma célula isolada compreendendo um ou mais ácidos nucleicos de acordo com a modalidade B36, ou um ou mais vetores de acordo com a modalidade B37.

B39. Um método de preparação do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B34, compreendendo cultivar a célula isolada da modalidade B38 sob condições adequadas para expressar o construto de anticorpo e purificar o construto de anticorpo.

B40. Um método de tratamento de um sujeito com câncer, compreendendo administrar ao sujeito uma quantidade eficaz do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B34.

B41. Uso de uma quantidade eficaz do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B34 para o tratamento de câncer em um sujeito em necessidade do mesmo.

B42. Uso do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B34 na preparação de um medicamento para o tratamento do câncer.

B43. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades B1 a B34, para uso no tratamento de câncer em um sujeito.

C1. Um construto de anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga especificamente a 4-1BB, compreendendo: uma sequência variável da cadeia pesada compreendendo três CDRs da cadeia pesada e uma sequência variável da cadeia leve compreendendo três CDRs da cadeia leve, em que as CDRs da cadeia pesada e as CDRs da cadeia leve são de qualquer um dos anticorpos 1G1, 1B2, 1C3, 1C8, 2A7, 2E8, 2H9, 3D7, 3H1, 3E7, 3G4, 4B11, 4E6, 4F9, 4G10, 5E2, 5G8 ou 6B3.

C2. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade C1, em que o construto de anticorpo agoniza 4-1BB.

C3. O construto de anticorpo de acordo com a modalidade C2, compreendendo uma sequência variável da cadeia pesada (VH) compreendendo três CDRs e uma sequência variável da cadeia leve (VL) compreendendo três CDRs, em que as CDRs da cadeia pesada e as CDRs da cadeia leve são de qualquer um dos anticorpos 1G1, 1C3, 1C8, 2E8, 3E7, 4E6, 5G8 ou 6B3.

C4. O construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades C1 a C3, em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno é ou compreende um anticorpo humanizado.

C5. O construto de anticorpo, de acordo com a modalidade C1 ou C2, compreendendo uma sequência VH e uma sequência VL com pelo menos 85% de identidade de sequência com as sequências VH e VL de qualquer uma das variantes v28726, v28727, v28728, v28730, v28700, v28704, v28705, v28706, v28711, v28712, v28713, v28696, v28697, v28698, v28701, v28702, v28703, v28707, v28683, v28684, v28685, v28686, v28687, v28688, v28689, v28690, v28691, v28692, v28694, ou v28695.

C6. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades C1 a C5, em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno tem uma afinidade de ligação (K_D) para uma molécula de 4-1BB humana de cerca de 10 nM a cerca de 500 nM.

C7. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades C1 a C6, em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno se liga a um epítopo dentro do domínio extracelular do polipeptídeo 4-1BB humano.

C8. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades C1 a C7, em que o construto de anticorpo inclui domínios constantes de imunoglobulina, em que os domínios constantes são de uma IgG1 ou uma variante da mesma, uma IgG2 ou

uma variante da mesma, uma IgG4 ou uma variante da mesma, uma IgA ou uma variante da mesma, uma IgE ou uma variante da mesma, uma IgM ou uma variante da mesma, ou uma IgD ou uma variante da mesma.

C9. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades C1 a C8, em que o anticorpo é ou compreende uma IgG1 humana.

C10. O construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades C1 a C9, em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno é um anticorpo monoclonal.

C11. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades C1 a C7, em que o fragmento de anticorpo é um fragmento Fab, um fragmento Fab′, um fragmento F(ab′)2, um fragmento Fv, um fragmento scFv, um anticorpo de domínio único ou um diacorpo.

C12. O construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades C1 a C11, conjugado a uma droga.

C13. Uma composição farmacêutica que compreende o construto de anticorpo de qualquer uma das modalidades C1 a C12.

C14. Um ou mais ácidos nucleicos que codificam o construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades C1 a C11.

C15. Um ou mais vetores compreendendo um ou mais ácidos nucleicos de acordo com a modalidade C14.

C16. Uma célula isolada compreendendo um ou mais ácidos nucleicos de acordo com a modalidade C14, ou um ou mais vetores de acordo com a modalidade C15.

C17. Um método de preparação do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades C1 a C12, compreendendo cultivar a célula isolada da modalidade C16 sob condições adequadas para expressar o construto de anticorpo e purificar o construto de anticorpo.

C18. Um método de tratamento de um sujeito com câncer, compreendendo administrar ao sujeito uma quantidade eficaz do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades C1 a C12.

C19. Uso de uma quantidade eficaz do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades C1 a C12 para o tratamento de câncer em um sujeito em necessidade do mesmo.

C20. Uso do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das

modalidades C1 a C12 na preparação de um medicamento para o tratamento do câncer.

C21. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades C1 a C12, para uso no tratamento de câncer em um sujeito.

D1. Um construto de anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga especificamente a FRα, compreendendo: uma sequência variável da cadeia pesada (VH) compreendendo três CDRs e uma sequência variável da cadeia leve (VL) compreendendo três CDRs, em que as CDRs da cadeia pesada e as CDRs da cadeia leve são do anticorpo 8K22 ou 1H06.

D2. O anticorpo anti-FRα ou fragmento de ligação ao antígeno de acordo com a modalidade D1, em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo é ou compreende um anticorpo humanizado.

D3. O anticorpo anti-FRα ou fragmento de ligação ao antígeno de acordo com a modalidade D1 ou D2, compreendendo uma sequência VH e uma sequência VL com pelo menos 85% de identidade de sequência com as sequências VH e VL de qualquer uma das variantes 23794, 23795, 23796, 23797, 23798, 23799, 23800, 23801, 23802, 23803, 23804, 23805, 23806, 23807, 23808, 23809, 23810, 23811, 23812, 23813, 23814, 23815, 23816, 23817 ou 23818.

D4. O anticorpo anti-FRα ou fragmento de ligação ao antígeno de acordo com a modalidade D1 ou D2, compreendendo uma sequência VH tendo pelo menos 85% de identidade de sequência com a sequência VH conforme estabelecido na SEQ ID NO: 300 e uma sequência VL tendo pelo menos 85% identidade de sequência com a sequência VL, conforme estabelecido na SEQ ID NO: 301.

D5.O anticorpo anti-FRα ou fragmento de ligação ao antígeno de acordo com qualquer uma das modalidades D1 a D4, em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno tem uma afinidade de ligação (K_D) para uma molécula de FRα humana de entre cerca de 100 pM a cerca de 100 nM.

D6. O anticorpo anti-FRα ou fragmento de ligação ao antígeno de acordo com qualquer uma das modalidades D1 a D5, em que o anticorpo inclui um domínio constante de imunoglobulina, em que o domínio constante é selecionado de uma IgG1 ou uma variante da mesma, uma IgG2 ou uma variante da mesma, uma IgG4 ou uma variante da mesma, uma IgA ou uma variante da mesma, uma IgE ou uma variante da mesma, uma IgM ou uma variante da mesma e uma IgD ou uma variante da mesma.

D7. O anticorpo anti-FRα ou fragmento de ligação ao antígeno, de acordo com qualquer uma das modalidades D1 a D6, em que o anticorpo é ou compreende uma IgG1 humana.

D8. O anticorpo anti-FRα ou fragmento de ligação ao antígeno de acordo com qualquer uma das modalidades D1 a D7, em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno é um anticorpo monoclonal.

D9. O anticorpo anti-FRα ou fragmento de ligação ao antígeno de acordo com qualquer uma das modalidades D1 a D8, em que o fragmento de anticorpo é um fragmento Fab, um fragmento Fab′, um fragmento F(ab′)2, um fragmento Fv, um fragmento scFv, um anticorpo de domínio único ou um diacorpo.

D10. O construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades D1 a D9, conjugado a uma droga.

D11. Uma composição farmacêutica que compreende o construto de anticorpo de qualquer uma das modalidades D1 a D10.

D12. Um ou mais ácidos nucleicos que codificam o construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades D1 a D9.

D13. Um ou mais vetores compreendendo um ou mais ácidos nucleicos de acordo com a modalidade D12.

D14. Uma célula isolada compreendendo um ou mais ácidos nucleicos de acordo com a modalidade D12, ou um ou mais vetores de acordo com a modalidade D13.

D15. Um método de preparação do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades D1 a D10, compreendendo cultivar a célula isolada da modalidade D14 sob condições adequadas para expressar o construto de anticorpo e purificar o construto de anticorpo.

D16. Um método de tratamento de um sujeito com câncer, compreendendo administrar ao sujeito uma quantidade eficaz do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades D1 a D10.

D17. Uso de uma quantidade eficaz do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades D1 a D10 para o tratamento de câncer em um sujeito em necessidade do mesmo.

D18. Uso do construto de anticorpo de acordo com qualquer uma das modalidades D1 a D10 na preparação de um medicamento para o tratamento do câncer.

D19. O construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das modalidades D1 a D10, para uso no tratamento de câncer em um sujeito.

EXEMPLOS

[00331] Abaixo estão exemplos de modalidades específicas relacionadas aos construtos de anticorpo aqui descritos. Os exemplos são oferecidos apenas para fins ilustrativos e não se destinam a limitar o escopo da divulgação de nenhuma forma. Esforços têm sido feitos para garantir a precisão com relação aos números usados (por exemplo, quantidades, temperaturas, etc.), mas alguns erros experimentais e desvios devem, é claro, ser permitidos.

[00332] A prática da presente invenção empregará, a menos que indicado de outra forma, métodos convencionais de química de proteínas, bioquímica, técnicas de DNA recombinante e farmacologia, dentro dos conhecimentos da técnica. Tais técnicas são explicadas por completo na literatura. Ver, por exemplo, T.E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* (W.H. Freeman and Company, 1993); A.L. Lehninger, *Biochemistry* (Worth Publishers, Inc., current addition); Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd Edition, 1989); *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey and Sundberg *Advanced Organic Chemistry 3rd Ed.* (Plenum Press) Vols A and B(1992).

EXEMPLO 1: Projeto e preparação de construtos de anticorpo biespecífico 4-1BB x HER2 exemplificativos

[00333] Uma série de construtos de anticorpo biespecíficos exemplificativos (ou anticorpos biespecíficos) direcionados a 4-1BB e o TAA HER2, bem como controles, foram construídos conforme descrito abaixo. Os anticorpos e controles foram preparados em diferentes formatos exemplificativos, conforme descrito na Figura 2. Estes construtos de anticorpos foram preparados a fim de permitir o exame do potencial para agonismo condicional de 4-1BB e o formato ideal para a atividade dos construtos 4-1BB x HER2.

Projeto de construtos de anticorpo biespecífico exemplificativos direcionados a 4-1BB e HER2

[00334] Os construtos de anticorpo biespecífico foram preparados em um

formato no qual o domínio de ligação ao antígeno HER2 era um scFv e o domínio de ligação ao antígeno 4-1BB era um Fab. Construtos, incluindo controles, compreendem um Fc de IgG1, a menos que indicado de outra forma (ver Tabela 1). Estes construtos de anticorpo biespecífico compreendem um Fc heterodimérico de IgG1 humano tendo conjuntos de substituições de aminoácidos de domínio CH3 que promovem a formação de um Fc heterodimérico. Estes conjuntos de substituições de aminoácidos são referidos neste documento como Het FcA (tendo as substituições de aminoácidos T350V / L351Y / F405A / Y407V) e Het FcB tendo as substituições de aminoácidos T350V / T366L / K392L / T394W). As variantes com esses conjuntos de substituições de aminoácidos são referidas na Tabela 1 como tendo modificações de "Het Fc". As variantes na Tabela 1 observadas como tendo "FcKO" têm as seguintes substituições de aminoácidos CH2 que eliminam a ligação de FcγR: L234A, L235A e D265S. Os resíduos de aminoácidos na região Fc são identificados de acordo com o índice EU.

[00335] Foram feitos construtos de anticorpos bivalentes, trivalentes e tetravalentes, todos tendo três cadeias polipeptídicas - uma cadeia pesada contendo mutações Het FcA, uma segunda cadeia pesada contendo mutações Het FcB e uma única cadeia leve. As cadeias pesadas foram construídas em uma série de formatos, todos constituídos por um ou dois domínios de ligação ao antígeno anti-4-1BB no formato Fab e um único domínio de ligação ao antígeno anti-HER2 no formato scFv. Esses formatos de cadeia pesada são descritos abaixo do N-terminal ao C-terminal:

- VL-VH-VH-CH1-dobradiça-CH2-CH3
- VH-CH1-dobradiça-CH2-CH3-VL-VH
- VH-CH1-dobradiça-CH2-CH3
- VL-VH-dobradiça-CH2-CH3

[00336] A Tabela 1 fornece uma descrição dos construtos de anticorpo biespecífico 4-1BB x HER2 que foram preparados. O número de domínios de direcionamento 4-1BB e domínios de direcionamento HER2 são indicados na coluna "Formato". Por exemplo, na Tabela 1, 1 x 1 indica que o construto de anticorpo biespecífico tem um domínio de ligação 4-1BB e um domínio de ligação HER2, 2 x 1 indica que o construto de anticorpo biespecífico tem dois domínios de ligação 4-1BB e um domínio de ligação HER2 etc. Os formatos dos construtos de anticorpos biespecíficos específicos descritos abaixo também estão representados na Figura 3.

Tabela 1: Construtos de anticorpos biespecíficos exemplificativos direcionados a 4-1BB e HER2

Variante	**Parátopos**	**Formato (4-1BB x HER2)**	**Descrição Fc**	**Descrição**
v16601	Trastuzumabe N-terminal scFv, monovalente MOR7480.1 4-1BB	1 x 1	Het Fc, FcKO	Construto de anticorpo biespecífico 4-1BB x HER2
v16605	Trastuzumabe C-terminal scFv, monovalente MOR7480.1 4-1BB	1 x 1	Het Fc, FcKO	Construto de anticorpo biespecífico 4-1BB x HER2
v16675	Trastuzumabe N-terminal scFv, bivalente MOR7480.1 4-1BB	2 x 1	Het Fc, FcKO	Construto de anticorpo biespecífico 4-1BB x HER2
v16679	Trastuzumabe C-terminal scFv, bivalente MOR7480.1 4-1BB	2 x 1	Het Fc, FcKO	Construto de anticorpo biespecífico 4-1BB x HER2
v15534	Trastuzumabe scFv, monovalente MOR7480.1 4-1BB	1 x 1	Het Fc	Construto de anticorpo biespecífico 4-1BB x HER2
v19353	Trastuzumabe, C-terminal 4-1BB, domínios de ligação 4-1BB são anticalinas	2 x 2	IgG4 com L234A, mutações L235A	Construto biespecífico de controle 4-1BB x HER2 (descrito em WO2016 / 177802)
v12592	MOR7840.1, sem braço de	2 x 0	Het Fc	construto de

	ligação HER2			controle, anticorpo anti-4-1BB monoespecífico
v13725	CR8071, anticorpo de controle negativo	0 x 0	HetFc	anticorpo HA anti-influenza totalmente humano
v16992	Pavilizumabe, anticorpo de controle negativo	0 x 0	HetFc, FcKO	anticorpo anti-RSV humano
v1040	trastuzumabe, anticorpo de um braço (formato Fab)	0 x 1	Het Fc	anticorpo de ligação a HER2 de controle

[00337] As sequências VH e VL usadas para construir os domínios de ligação ao antígeno 4-1BB dos construtos são fornecidas na Tabela 15, assim como as sequências scFv usadas para construir os construtos contendo HER2 scFv. A Tabela X identifica os clones que constituem cada um dos construtos de anticorpos. As sequências polipeptídicas de cada clone podem ser encontradas na Tabela Y.

Produção de anticorpos biespecíficos 4-1BB x HER2

[00338] Para permitir a produção de anticorpos biespecíficos, vetores de cadeia pesada tendo um sítio de restrição 5'-EcoR1 - peptídeo sinal - clone de cadeia pesada terminando em G446 (numeração EU) de CH3 - parada TGA - BamH1 cutite-3', foram ligados em um pTT5 vetor para produzir vetores de expressão da cadeia pesada. Os vetores da cadeia leve, tendo um sítio de corte 5'-EcoRI - peptídeo de sinal - cadeia leve - parada TGA - BamH1 sítio de corte-3', foram ligados em um vetor pTT5 (Durocher Y et al., Nucl. Acids Res. 2002; 30, No.2 e9) para produzir vetores de expressão da cadeia leve. Os vetores de expressão da cadeia pesada e leve resultantes foram sequenciados para confirmar o quadro de leitura correto e a sequência do DNA codificador. Um de dois peptídeos de sinal foi usado, uma sequência projetada artificialmente, MRPTWAWWLFLVLLLALWAPARG [SEQ ID NO: 1], Barash S et al., Biochem and Biophys Res. Comm. 2002; 294, 835-842) ou o peptídeo sinal HLA-A MAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAG [SEQ ID NO:2].

[00339] As cadeias pesadas e leves das variantes foram expressas em culturas de 200 ml de células CHO-3E7. As células CHO-3E7, a uma densidade de 1,7-2 x10^6 células

/ ml, foram cultivadas a 37°C em meio FreeStyle™ F17 (Thermo Fisher, Watham, MA) suplementado com glutamina 4 mM (GE Life Sciences, Marlborough, MA) e 0,1 % KoliphorP188 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO). Um volume total de 200 ml foi transfectado com um total de 200 µg de DNA (100 µg de DNA variante e 100 µg de GFP / AKT / DNA stuffer) usando PEI-max (Polyscience, Philadelphia, PA) a uma razão DNA:PEI de 1:4 (P/P). Vinte e quatro horas após a adição da mistura de DNA-PEI, ácido valproico 0,5 mM (concentração final) + 1% p / v Triptona (concentração final) + 1x antibiótico / antimicóticos (GE Life Sciences, Marlborough, MA) foram adicionados a as células foram então transferidas a 32°C e incubadas durante 7 dias antes da colheita.

[00340] Amostras de sobrenadante clarificadas foram incubadas em lote com resina MabSelect™ SuRe™ (GE Healthcare, Chicago, IL), limpa com NaOH e equilibrada em DPBS. A resina foi vertida em colunas limpas, as colunas foram lavadas com DPBS e a proteína eluída com tampão citrato de sódio 100 mM, pH 3,0. O pH dos anticorpos eluídos foi ajustado pela adição de HEPES 1M a 10% (v / v) pH 8 para produzir um pH final de 6-7. As amostras foram trocadas por tampão em PBS e filtradas assepticamente. A proteína foi quantificada com base em A280 nm (NanoDrop™). Os níveis de endotoxina foram determinados usando o sistema Endosafe® Portable (Charles River, Wilmington, MA). Para amostras acima de 0,1 EU / mg, estas foram submetidas à remoção de endotoxinas com as colunas Proteus NoEndo™ Spin (Charles River, Wilmington, MA).

[00341] Após a purificação da proteína A, as amostras foram trocadas por tampão em DPBS e filtradas assepticamente ou, dependendo de sua homogeneidade avaliada por UPLC-SEC, submetidas à purificação SEC. As amostras foram carregadas em uma coluna Superdex 200 10/30 Increase (GE Healthcare Life Sciences, Marlborough, MA) em um sistema de cromatografia Akta Avant 25 (GE Healthcare Life Sciences, Marlborough, MA) em DBPS com uma taxa de fluxo de 0,5 mL / min. As frações da proteína eluída foram coletadas com base em A280 nm e as frações foram avaliadas por ensaio High Throughput Protein Express não redutor e redutor usando Caliper LabChip GXII (Perkin Elmer, Waltham, MA). Os procedimentos foram realizados de acordo com o HT Protein Express LabChip User Guide version 2 LabChip GXII User Manual, com as seguintes modificações. amostras de anticorpos, a 2 µl ou 5 µl (faixa de concentração 5-2.000 ng / µl), foram adicionadas a poços separados em placas de 96 poços (BioRad, Hercules, CA) junto com 7 µl de HT Protein Express Sample Buffer (Perkin Elmer #760328). As amostras de anticorpos

foram então desnaturadas a 70°C durante 15 minutos. O instrumento LabChip foi operado usando o chip HT Protein Express (Perkin Elmer, Waltham, MA) e a configuração de ensaio Ab-200.

[00342] Os níveis de endotoxina foram determinados pelo ensaio LAL (lisado de amebócito limulus) usando o Endosafe® Portable Test System (PTS, Charles River, Wilmington, MA). A proteína foi quantificada com base em A280 nm (Nanodrop) pós-proteína A e SEC.

[00343] UPLC-SEC foi realizado usando uma coluna Waters Acquity BEH200 SEC (2,5 mL, 4,6 x 150 mm, aço inoxidável, partículas de 1,7 μm) (Waters LTD, Mississauga, ON) ajustada para 30°C e montada em um sistema Waters Acquity UPLC H-Class Bio com detector PDA. Os tempos de execução consistiram em 7 min e um volume total por injeção de 2,8 mL com um tampão de execução de DPBS ou DPBS com 0,02% de Tween 20 pH 7,4 a 0,4 ml / min. A eluição foi monitorada por absorbância de UV na faixa de 210-500 nm, e os cromatogramas foram extraídos a 280 nm. A integração de pico foi realizada usando software Empower 3.

Avaliação da pureza de anticorpos biespecíficos por LC / MS

[00344] A pureza aparente das variantes foi avaliada usando espectrometria de massa após purificação e desglicosilação não desnaturante como descrito abaixo.

[00345] Como o anticorpo continha glicanos ligados a Fc N apenas, as amostras foram tratadas com apenas uma enzima, N-glicosidase F (PNGase-F). As amostras purificadas foram desglicosiladas com PNGaseF da seguinte forma: 0,1U PNGaseF / μg de anticorpo em Tris-HCl 50 mM pH 7,0, incubação durante a noite 37°C, concentração final de proteína de 0,48 mg / mL. Após desglicosilação, as amostras foram armazenadas 4°C antes da análise por LC-MS.

[00346] As amostras de proteínas desglicosiladas foram analisadas por LC-MS intacta usando um sistema Agilent 1100 HPLC acoplado a um espectrômetro de massa LTQ-Orbitrap XL (ThermoFisher, Waltham, MA) por meio de uma fonte de eletropulverização Ion Max. As amostras (5 μg) foram injetadas em uma coluna de fase reversa Poros R2 de 2,1 x 30 mm (Applied Biosystems) e resolvidas usando as seguintes condições de gradiente: 0-3 min: 20% de solvente B; 3-6 min: 20-90% de solvente B; 6-7 min: 90-20% de solvente B; 7-9 min: 20% de solvente B. O solvente A foi ácido fórmico aq. 0,1% desgaseificado e o solvente B foi acetonitrila desgaseificada. A taxa de fluxo foi de 3

mL / min. O fluxo foi dividido após a coluna para direcionar 100µL / mL para a interface de eletropulverização. A coluna foi aquecida a 82,5°C e os solventes foram aquecidos na pré-coluna a 80° C para melhorar a forma do pico da proteína. Antes da análise, o LTQ-Orbitrap XL foi calibrado usando a solução de calibração LTQ Positive Ion ESI da ThermoFisher Scientific (cafeína, MRFA e Ultramark 1621) e ajustado para detecção ideal de proteínas maiores (> 50kDa) usando uma solução de 1 mg / mL de lactalbumina. A voltagem do cone (configuração de fragmentação da fonte) foi de aproximadamente 40 V, a resolução FT foi de 7.500 e a faixa de varredura foi de m / z 400-4.000. O sistema LC-MS foi avaliado para análise de amostra de IgG usando um padrão de IgG desglicosilado (padrão Waters IgG), bem como uma mistura de padrão de anticorpo desglicosilado (25:75 anticorpo metade:tamanho completo).

[00347] Para cada análise de LC-MS, os espectros de massa adquiridos através do pico do anticorpo (normalmente 3,6-4,1 minutos) foram somados e todo o envelope de íons com carga múltipla (m / z 1.400-4.000) foi deconvoluído em um perfil de peso molecular usando o módulo MaxEnt 1 de MassLynx™, o software de controle de instrumentos e análise de dados (Waters LTD, Missassaugua, ON). Resumidamente, os dados de LC-MS da proteína bruta foram abertos pela primeira vez no QualBrowser, o módulo de visualização de espectro de Xcalibur™ (Thermo Fisher, Waltham, MA) e convertidos para serem compatíveis com MassLynx™ usando Databridge™, um programa de conversão de arquivos fornecido pela Waters. Os espectros de proteína convertidos foram visualizados no módulo Spectrum do MassLynx™ e deconvoluídos usando MaxEnt 1. A quantidade aparente de cada espécie de anticorpo em cada amostra foi determinada a partir de suas alturas de pico nos perfis de peso molecular resultantes. Na maioria dos casos, os anticorpos constituíram > 95% do construto desejado, sem glicovariantes principais.

EXEMPLO 2: Capacidade de construtos de anticorpo biespecífico 4-1BB x HER2 de se ligar a 4-1BB e HER2 conforme avaliado por Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR)

[00348] Para verificar a produção e as características dos anticorpos biespecíficos 4-1BB x HER2 descritos no Exemplo 1, a capacidade desses anticorpos se ligarem a 4-1BB e HER2 humanos foi avaliada por SPR. As variantes biespecíficas de 4-1BB x HER2 16601, 16605, 16675, 16679 foram avaliadas, bem como a variante de anticorpo de controle 19353 (trastuzumabe, tendo dois domínios de anticalina nos terminais

C de ambas as cadeias pesadas que se ligam a 4-1BB).

Ligação de 4-1BB a anticorpos por SPR

[00349] Um ensaio de ligação de ressonância plasmônica de superfície (SPR) para determinação da afinidade de ligação de 4-1BB a variantes de anticorpo 4-1BB foi realizado no instrumento Biacore™ T200 (GE Healthcare, Mississauga, ON, Canadá) com PBS-T (PBS + 0,05% (v/v) Tween 20) tampão de corrida (com solução estoque de EDTA 0,5 M adicionada a concentração final de 3,0 mM) a uma temperatura de 25°C. O chip sensor CM5 Series S, o kit de acoplamento de amina Biacore™ (NHS, EDC e 1 M de etanolamina) e tampões de acetato de sódio 10 mM foram todos adquiridos na GE Healthcare. O tampão de execução de PBS com 0,05% de Tween20 (PBS-T) foi adquirido na Teknova Inc. (Hollister, CA). O anticorpo Fc policlonal anti-humano de cabra foi adquirido na Jackson ImmunoResearch Laboratories Inc. (West Grove, PA).

[00350] A ligação SPR de anticorpos ao antígeno 4-1BB ocorreu em duas etapas: uma captura indireta de anticorpos na superfície do anticorpo policlonal específico para Fc anti-humano, seguida pela injeção de cinco concentrações de 4-1BB monomérico humano purificado (SEQ ID NO: 70). A proteína monomérica 4-1BB foi produzida por clivagem de uma proteína de fusão 4-1BB-Fc (v16730). 4-1BB-Fc foi expresso e purificado com Proteína A da mesma maneira para anticorpos no Exemplo 1 acima. O construto foi feito com um sítio de clivagem do fator Xa entre o 4-1BB e o Fc, e com uma etiqueta 10xHis no termo c do Fc.

[00351] v16730 em dPBS foi trocado por tampão de clivagem de Fator Xa (Tris 20 mM, NaCl 100 mM, CaCl2 2 mM pH 8) usando uma coluna de rotação Zeba de 5 mL (ThermoFisher) e clivado com 0,45% (p / p) de Fator Xa (New England Biolabs, Whitby, ON, Canadá) durante a noite em temperatura ambiente. A reação de clivagem foi interrompida adicionando 0,372 μM de concentração final de 1,5-Dansyl-Glu-Gly-Arg-clorometil cetona (Calbiochem, San Diego, Califórnia, EUA) como um inibidor. A clivagem satisfatória foi verificada por NR+R SDS-PAGE. A mistura de reação de clivagem foi subsequentemente aplicada a uma coluna de 1 mL HiTrap Ni Sepharose Excel (GE Heathcare) equilibrada em dPBS e a coluna lavada com 5xCV dPBS. A proteína 41BB clivada foi coletada nas frações de fluxo direto. O Fc residual foi removido usando purificação de Proteína A aplicando a amostra de proteína ao mAb Select SuRe por gravidade. O fluxo direto foi aplicado a uma coluna Superdex 200 10/30 equilibrada em

dPBS. As frações correspondentes ao produto 41BB principal foram coletadas e usadas para SPR.

[00352] A superfície de anti-Fc humano foi preparada em um chip sensor CM5 Series S por métodos de acoplamento de amina padrão, conforme descrito pelo fabricante (GE Healthcare). Resumidamente, imediatamente após a ativação de EDC / NHS, uma solução de 25 µg / mL de anti-Fc humano em NaOAc 10 mM pH 4,5 foi injetada a uma taxa de fluxo de 10 µL / min por 420s até aproximadamente 2.000 unidades de ressonância (RUs) serem imobilizadas em todas as quatro células de fluxo. Os grupos ativos restantes foram extintos por uma injeção de 420s de etanolamina 1M a 10 µL / min.

[00353] Os anticorpos para análise foram capturados na superfície anti-Fc pela injeção de soluções de 5 µg / mL a uma taxa de fluxo de 10 µL / min por 60s. Usando cinética de ciclo único, cinco concentrações de uma série de diluição dupla de 4-1BB começando em 40nM (tanto para o sobrenadante quanto para o anticorpo purificado) com um controle de tampão em branco foram injetadas sequencialmente a 40 µL / min por 180s com uma fase de dissociação de 600s, resultando em um conjunto de sensorgramas com uma referência de tampão em branco. As experiências foram realizadas a uma temperatura constante de 25°C. As superfícies de anti-Fc humano foram regeneradas para se preparar para o próximo ciclo de injeção por um pulso de Glicina / HCl 10 mM pH 1,5 por 120 s a 40 µL/min. Os sensogramas subtraídos em branco foram analisados usando o software Biacore^{TM} T200 Evaluation v3.0. Os sensorgramas subtraídos em branco foram então ajustados ao modelo de ligação Langmuir 1:1.

Ligação de HER2 a anticorpos por SPR

[00354] Um chip de captura anti-Fc foi preparado da mesma maneira que acima, então anticorpos para análise a 50 µg / ml foram injetados no chip a uma taxa de fluxo de 10 µl / min por 60s. Usando cinética de ciclo único, cinco concentrações de uma série de diluição dupla de HER2 (tendo Her-2 humano recombinante aminoácidos 23-652; eBioscience) começando em 40nM (tanto para o sobrenadante quanto para o anticorpo purificado) com um controle de tampão em branco foram injetadas sequencialmente a 50 µL / min por 180s com uma fase de dissociação de 1800s, resultando em um conjunto de sensorgramas com uma referência de tampão em branco. As experiências foram realizadas a uma temperatura constante de 25°C. As superfícies de anti-Fc humano foram regeneradas para se preparar para o próximo ciclo de injeção por um pulso de Glicina / HCl 10 mM pH

1,5 por 120 s a 40 µL/min. Os sensogramas subtraídos em branco foram analisados usando o software Biacore™ T200 Evaluation v3.0. Os sensogramas subtraídos em branco foram então ajustados ao modelo de ligação Langmuir 1:1 para obter os valores ka, kd e KD mostrados na Tabela 2 abaixo.

Tabela 2: Capacidade de construtos de anticorpos biespecíficos de se ligarem ao alvo

Variante	HER2			4-1BB		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
16601	$9,44 \times 10^{4}$	$7,63 \times 10^{-5}$	$8,09 \times 10^{-10}$	$5,61 \times 10^{5}$	$1,15 \times 10^{-2}$	$2,05 \times 10^{-8}$
16605	$4,18 \times 10^{4}$	$7,83 \times 10^{-5}$	$1,88 \times 10^{-9}$	$1,03 \times 10^{6}$	$1,32 \times 10^{-2}$	$1,29 \times 10^{-8}$
16675	$1,02 \times 10^{5}$	$8,08 \times 10^{-5}$	$7,91 \times 10^{-10}$	$7,89 \times 10^{5}$	$1,35 \times 10^{-2}$	$1,71 \times 10^{-8}$
16679	$4,96 \times 10^{4}$	$6,61 \times 10^{-5}$	$1,33 \times 10^{-9}$	$1,04 \times 10^{6}$	$1,34 \times 10^{-2}$	$1,30 \times 10^{-8}$
19353	$1,1 \times 10^{5}$	$6,76 \times 10^{-5}$	$6,16 \times 10^{-10}$	$1,71 \times 10^{4}$	$6,01 \times 10^{-3}$	$3,51 \times 10^{-7}$

[00355] A Tabela 2 mostra que os anticorpos em diferentes formatos ainda são capazes de se ligar aos seus alvos com afinidade semelhante, independentemente do formato. As variantes com trastuzumabe C-terminal scFv, v16605 e v16679, mostraram uma queda de cerca de 2-3 vezes em KD em comparação com anticorpos com N-terminal scFv, mas isso foi considerado uma alteração menor e não se espera que afete a função. Todos os anticorpos 4-1BB mostraram valores de KD semelhantes, com o anti-4-1BB anticalina v19353 mostrando uma afinidade mais baixa para 4-1BB em comparação com os anticorpos.

EXEMPLO 3: Capacidade de construtos de anticorpo biespecífico 4-1BB x HER2 de estimular a atividade de 4-1BB em um ensaio repórter NF-kB-Luciferase

[00356] Para testar a capacidade dos anticorpos biespecíficos 4-1BB x HER2 de estimular a atividade 4-1BB na presença de uma célula tumoral que expressa HER2, um ensaio de gene repórter foi usado como uma medida de sinalização a jusante de 4-1BB para um NF-kB repórter dirigindo luciferase. Os anticorpos biespecíficos 4-1BB x HER2 testados incluíram as variantes 16675, 16679, 15534, 16601 e 16605. Os construtos de controle 19353, 1040, 16992 e 12952 também foram testados.

[00357] A capacidade de anticorpos biespecíficos para ativar 4-1BB no

contexto de células tumorais HER2+ foi medida usando um ensaio de cocultura. Este ensaio usou células Jurkat engenheiradas para expressar 4-1BB e um gene repórter de luciferase conduzido por um sítio NF-kB. Este ensaio mede a sinalização de 4-1BB na superfície da célula até o núcleo. Duas linhagens de tumor diferentes foram usadas; SKOV3, que expressa um alto nível de HER2, e MDA-MB-468, que expressa um baixo nível de HER2. Se a ativação de 4-1BB for dependente de HER2, a ativação deve ser observada em cocultura com células SKOV3 e não com células MDA-MB-468.

[00358] No dia anterior ao ensaio, placas de poliestireno branco, tratado com TC, de 384 poços (Corning) foram tratadas com 40 µL / poço de OKT3, anticorpo anti-CD3-humano de camundongo (Biolegend) a 5 µg / mL em tampão de fosfato solução salina (PBS) (Gibco). A placa foi vedada à tampa da placa envolvendo parafilme. A placa foi incubada durante a noite a 4°C. No dia seguinte, o conteúdo da placa foi aspirado e a placa foi lavada com 3 trocas de água destilada (120µL/ poço) em lavador de placas 405HT ELISA (Biotek). A placa estava então pronta para uso no ensaio.

[00359] Os anticorpos biespecíficos foram diluídos em Tampão de Ensaio (RPMI (Gibco) / FBS a 1% (Gibco)) até 400 nM (concentração final do ensaio 100 nM). Um volume de 15 µL foi pipetado para o poço de uma placa de 384 poços tratada com OKT3 como acima recebendo a concentração de topo da variante. Um volume de 5µL foi pipetado para um volume de 10µL de Tampão de Ensaio no próximo poço para o segundo poço de concentração mais alta e misturado para dar uma diluição de 3 vezes. Isso foi repetido para a transferência do segundo poço mais alto para o terceiro mais alto até o poço de concentração mais baixa, onde o volume residual de 5µL foi removido. 10µL de células tumorais SKOV3 ou MDA-MB-468, a uma densidade de $2x10^6$ células / mL, foram então adicionados para dar $2x10^4$ células/poço. Células Jurkat NFκB luc2P / 4-1BB Descongelar e usar (Promega) foram descongeladas a 37°C de acordo com as instruções do fabricante e diluídas com 5,8 mL de Tampão de Ensaio. Um volume de 20 µL da suspensão de células repórter a aproximadamente $1x10^6$ células/mL (~$2x10^4$ células) foi adicionado a cada poço contendo a mistura variante / células efetoras.

[00360] As células cocultivadas com variantes foram então incubadas a 37°C em uma atmosfera de 5% de CO_2 por 5 horas e, em seguida, equilibradas à temperatura ambiente na bancada por 10 minutos. Um volume de 40 µL de reagente de substrato de

luciferase Bio-Glo™ (Promega) foi adicionado a cada poço da placa e incubado por 10 minutos em temperatura ambiente. A placa foi digitalizada no leitor de placa multimodo Synergy™ H1 (Biotek) no modo de luminescência. Os dados foram analisados usando Prism 7 (GraphPad) e ajuste não linear de inclinação variável de quatro parâmetros.

Resultados

[00361] Todas as variantes com um braço de ligação 4-1BB induziu a sinalização NF-kB dependente da dose a jusante de 4-1BB, conforme medido pela produção de luciferase neste ensaio quando cocultivadas com células SKOV-3 (Figura 4A a 4I). Em comparação, as variantes com atividade mostraram menor atividade em células MDA-MD-468, sugerindo que a presença de HER2 na superfície das células SKOV-3 induziu a reticulação dos anticorpos e sinalização de 4-1BB intensificada. A ativação mais baixa de 4-1BB foi observada com a variante v16601. v16605 e v16675 mostraram maior atividade. v16679 apresentou atividade mais alta, conforme determinado pela maior potência (EC50) e atividade (RLU máx.). O anticorpo biespecífico de controle positivo 4-1BB x HER2 v19353 mostrou potência intermediária - maior que v16601 e v16605, mas menor que v16675 e v16679. No entanto, v19353 (tendo um domínio de ligação de lipocalina 4-1BB) mostrou baixa atividade, conforme dado por RLU máximo, em comparação com os agonistas de 4-1BB baseados em anticorpos. A variante de controle monoespecífico 4-1BB v12592 mostrou baixa atividade em concentrações mais baixas, com atividade aumentando com a concentração; no entanto, a atividade deste anticorpo não foi aumentada na presença de células SKOV3 em comparação com células MDA-MD-468. A variante de controle v1040 não mostrou atividade na ativação de 4-1BB, sugerindo que não houve efeito direto do braço de ligação de HER2 no experimento. v16992 similarmente não mostrou nenhum efeito de um anticorpo de controle de não ligação. Um sumário dos resultados é fornecido na Tabela 3.

Tabela 3: Atividade de construtos de anticorpo biespecífico 4-1BB x HER2

Variante	EC_{50} (pM)	Atividade máxima (RLU)
v16601	2624	27917
v16605	400,7	92032
v16675	56,92	80946

v16679	30,09	131190
v19353	101,9	67157
v15534	237,3	74426

[00362] A partir destes dados, pareceu que os construtos com dois braços de ligação anti-4-1BB mostraram maior atividade do que os construtos com um braço anti-4-1BB. Os construtos com um sítio de ligação Her2 próximo ao sítio de ligação 4-1BB (por exemplo, v16601 e v16675) pareceram menos ativos do que os construtos com o sítio de ligação Her2 distal do sítio de ligação 4-1BB (por exemplo, v16605 e v16679).

EXEMPLO 4: Ensaio de cocultura de células T primárias-tumor

[00363] A atividade dos construtos 4-1BB x HER2 também foi comparada usando células T primárias em cocultura com células tumorais. Para observar a ativação de células T e os efeitos de 4-1BB de forma mais ampla, a produção de citocinas como IFNγ ou IL-2 por células T foi usada como um substituto para ativação e função de células T. A IL-2 também é uma citocina chave produzida pelas células T após a ativação, que promove sua sobrevida e se correlaciona com a ativação das células T. Este experimento examinou a capacidade de anticorpos 4-1BB x HER2 de intensificar a ativação de células T conforme medido pela produção de IL-2, onde as células T foram ativadas por uma quantidade subideal de anticorpo anti-CD3. As variantes 16601, 16605, 16675 e 16679 de anticorpo biespecífico 4-1BB x HER2 foram testadas neste exemplo, juntamente com as variantes de controle 1040, 12592 e um controle negativo de IgG1 humana. O ensaio foi realizado como descrito abaixo, usando células T CD4+.

[00364] Antes da experiência, placas de 96 poços foram revestidas com anti-CD3 adicionando 100 µl 1 µg / ml de UCHT1 aos poços. A placa foi, então, incubada durante a noite a 4°C. O sangue foi obtido de doadores saudáveis, centrifugado a 1.500rpm por 5 minutos e o plasma descartado. O sangue foi então diluído em PBS, colocado em camadas sobre Ficoll™ e centrifugado a 2.000 rpm por 20 minutos em temperatura ambiente. A camada de interface de PBMC foi então retirada, lavada com PBS para remover as plaquetas e ressuspensa. As células foram então contadas, diluídas para 5 x 10^7 células por ml em PBS 2% FBS 1 mM EDTA, e o coquetel de enriquecimento de células T CD4+ (Stemcell Technologies) adicionado a 50 µl / ml de células. As células foram então deixadas à

temperatura ambiente durante 10 minutos. Partículas magnéticas EasySep™ D (Stemcell Technologies) foram então adicionadas a células de 100 µl / ml, misturadas e deixadas em temperatura ambiente por 5 minutos. As células foram então diluídas para um volume de 10 ml usando PBS / 2% FCS / 1 mM EDTA e colocadas em um ímã EasySep™. As células não selecionadas foram então decantadas e colocadas em um tubo novo em um ímã EasySep™, e essas células decantadas em um tubo novo.

[00365] As células T CD4+ foram então lavadas duas vezes em RPMI-1640 10% FCS 1% Penicilina-Estreptomicina e diluídas para 10^6 células/ml e 100 µl adicionados por poço a uma placa de 96 poços que tinha sido pré-revestida com anti-CD3 (UCHT1). Obtiveram-se células SKBR3, diluídas para 2 x 10^5 células/ml e adicionaram-se 50 µl aos poços. As amostras de anticorpos também foram diluídas para 40 nM em RPMI-1640 10% FCS 1% Penicilina-Estreptomicina e 50 µl da solução resultante adicionado por poço (concentração final de 10 nM). Em alguns casos, os anticorpos foram reticulados usando um anticorpo anti-Fc. A placa foi então incubada por três dias a 37°C em uma atmosfera de 5% de CO_2 e os sobrenadantes foram retirados para análise das concentrações de IL-2 por ELISA.

Resultados

[00366] Semelhante ao ensaio do gene repórter 4-1BB NF-kB, a maior produção de IL-2 foi observada com v16679, com v16675 e v16605 mostrando níveis iguais de IL-2 (Figura 5, painel esquerdo). Sem células SKBR3 na cultura, nenhum aumento na produção de IL-2 foi visto como resultado de qualquer um dos biespecíficos 4-1BB. O v12592 reticulado por anti-Fc foi usado como um controle positivo e representa o nível de sinalização induzido por um anticorpo totalmente reticulado (Figura 5, painel direito). Estes dados indicaram que das variantes testadas, v16679 (tendo o formato descrito na Figura 2B) foi capaz de induzir um nível de sinalização de 4-1BB nas células T em excesso daquele estimulado por v12592.

EXEMPLO 5: Comparação da ativação de células T por v16679, v19353 e v12592 conforme medido pela produção de IFN-γ

[00367] Como v16679 pareceu ser o 4-1BB x HER2 biespecífico mais ativo tanto no ensaio de gene repórter quanto na cocultura de células T primárias, a capacidade desta variante de estimular a produção de citocinas por células T em cocultura com células

SKBR3 foi comparada com os construtos de controle positivo v19353 e v12592. Neste experimento, a produção de IFNγ foi usada como uma medida de ativação de células T conforme descrito abaixo.

[00368] Os anticorpos biespecíficos 4-1BB x HER2 foram preparados a 150 nM em meio de ensaio (RPMI contendo 5% de soro AB humano com 1% de penicilina-estreptomicina (Gibco)). 20 µl de anticorpos diluídos a 150 nM foram então adicionados ao poço de concentração superior de uma placa de cultura de células de 384 poços estéril (Thermo Scientific) e, em seguida, os anticorpos diluídos em série 1:3 para gerar as concentrações de anticorpo mais baixas.

[00369] Células tumorais SKBR3 foram cultivadas em RPMI 10% FCS, tratadas com 0,05% de tripsina-EDTA (Invitrogen) para removê-las da placa, coletadas e contadas. Após centrifugação, as células tumorais foram ressuspensas em meio de ensaio a uma concentração de 10^6 células por ml. 10^4 células tumorais (10 µl) foram adicionadas por poço de acordo com cada condição. APCs artificiais (células aAPC / CHO-K1, Promega) foram coletadas usando tampão de dissociação celular e contadas. Essas células expressaram anti-CD3 (OKT3) e PD-L1 na superfície da célula e foram usadas para estimular as células T de uma maneira não específica. Após centrifugação, as células APC artificiais foram ressuspensas em meio de ensaio a uma concentração de 10^6 células por ml. As células T foram descongeladas, peletizadas, contadas e ressuspensas em meio de ensaio a uma concentração de 2×10^6 células por ml. Células T CD8+, células T CD4+ e células pan-T foram adquiridas em BioIVT, Westbury, NY, EUA ou Stemcell, Vancouver, BC, Canadá.

[00370] aAPC / CHO-K1 e CD8+, células T CD4+ ou células pan-T, cada uma de doadores separados, foram então misturadas na razão de 1:2 e 30 µl de mistura de células foram adicionados à placa de 384 poços junto com as células tumorais SKBR3 de 10 µl. A placa foi então incubada a 37°C em uma atmosfera de 5% de CO_2.

[00371] Após quatro dias, o sobrenadante foi coletado para realizar ELISA de fluorescência homogênea por tempo resolvido (HTRF™). Foram adicionados 5 µl de sobrenadantes, 5 µl de padrões de IFNγ diluídos em série ou 5 µl de PBS aos poços de uma placa de 384 poços rasos de fundo redondo branco (Thermo Scientific). O anticorpo Anti-IFNγ-Cryptate (Cisbio, Bedford, MA) e o anticorpo anti-IFNγ-XL (Cisbio, Bedford, MA) foram diluídos 20 vezes em tampão de detecção #3 (Cisbio, Bedford, MA), e 2 µl de cada anticorpo diluído misturado com 11 µl de PBS por poço. 15 µl deste coquetel de anticorpos

foram adicionados aos poços da placa de 384 poços juntamente com 5 µl de sobrenadante experimental ou padrões. A placa foi então vedada e deixada durante a noite à temperatura ambiente. No dia seguinte, a placa foi lida a 665 e 620nm em um leitor Biotek e os valores relatados como a razão de leituras de 665nm / 620nm, após correção para a absorção da placa usando poços somente de PBS. As concentrações de IFNγ foram calculadas usando a curva padrão. GraphPad Prism v7 foi usado para análise de dados, usando o modelo não linear de quatro parâmetros.

Resultados

Os resultados são mostrados na Figura 6 com vários doadores independentes de células T CD4 e CD8, bem como um único doador de células pan-T. Isso foi feito para testar se a resposta foi encontrada apenas em um pequeno número de doadores. Em todos os doadores de células CD4, CD8 e pan-T, a v16679 mostrou um aumento dependente da dose na produção de IFNγ por células T em cocultura com células SKBR3. v16679 também mostrou uma produção máxima de citocinas muito maior e maior potência em comparação com v19353. v12592 não estava ativo neste experimento e não mostrou atividade maior do que a observada pelo controle negativo v13725, sugerindo que v16679 está ativo em condições onde v12592 não está.

EXEMPLO 6: Geração de anticorpos que se ligam a 4-1BB e preparação de anticorpos quiméricos camundongo-humano

[00372] Anticorpos adicionais direcionados a 4-1BB foram gerados por ImmunoPrecise (Victoria, Canadá) usando sua estratégia de imunização patenteada RapidPrime para imunizar camundongos.

[00373] Resumidamente, camundongos Balb / c e NZB / W foram imunizados com proteína 4-1BB-His humana ou uma mistura de 4-1BB-His humano e 4-1BB-Fc de camundongo (Acro Biosystems, Newark, DE), e baços retirados e dissociado para obter células individuais. Os esplenócitos foram então fundidos com uma linha parceira de mieloma para criar hibridomas. As células de hibridoma foram clonadas por diluição limitativa e os sobrenadantes retirados para triagem.

[00374] Os anticorpos que se ligam a 4-1BB humano, cynomolgus (*Macaca fascicularis*) e / ou camundongo (*Mus musculus*) foram identificados por ELISA. Placas de 96 poços foram revestidas pela adição de 100 µl de uma solução de 0,1 µg / ml de 4-1BB

humano, cynomolgus ou camundongo em tampão carbonato (pH 9,6) durante a noite a 4°C. Os poços foram então bloqueados usando leite em pó desnatado a 3% em PBS durante 1 hora à temperatura ambiente, seguido pela adição de sobrenadante de hibridoma puro (100 µl / poço) a 37°C durante 1 hora com agitação. O anticorpo foi então detectado usando 1:10000 cabra anti-IgG / IgM de camundongo (H+L)-HRP, 100 µl / poço em PBS 0,05% Tween-20 por 1 hora a 37°C com agitação. A presença de HRP no poço foi então detectada usando substrato TMB (50 µl / poço) por 3 minutos no escuro, seguido pela adição de 50 µl de HCl 1M para interromper a reação. A placa foi então lida a 450 nm. Os anticorpos também foram contra-selecionados para excluir os anticorpos que se ligaram aos membros da superfamília do TNF, Ox40 e CD40, e GITR, usando o mesmo método.

Resultados

Vinte e quatro anticorpos que se ligam a 4-1BB humano foram encaminhados para serem sequenciados e posteriormente caracterizados. Alguns desses anticorpos também se ligaram a 4-1BB cynomolgus ou de camundongo.

Recuperação de Anticorpo

[00375] Os vinte e quatro anticorpos selecionados por ELISA foram então sequenciados para obter sequências completas de VH e VL. Para preparar o RNA de células de hibridoma, as células foram lavadas uma vez em solução salina tamponada com fosfato frio (pH 7,4) e imediatamente processadas através do kit RNeasy Plus Micro (QIAgen). O RNA total foi eluído em água sem nuclease e o mRNA convertido em cDNA usando a transcriptase reversa AMV (NEB), iniciada com oligo (dT_{20}).

[00376] A PCR inicial de sequências de codificação de anticorpos de cadeia pesada e leve foi realizada usando iniciadores e métodos modificados de Babcook *et al*. (Proc Natl Acad Sci USA 1996 Jul 23; 93(15): 7843) and von Boehmer *et al*. (Nat Protoc. 2016 Oct; 11(10): 1908), com cDNA como modelo de ácido nucleico. Os produtos de PCR foram clonados no vetor pCRTOPO4 usando o kit Zero Blunt™ TOPO™ PCR Cloning (Thermofisher Scientific) e transformados em™ células de E. cloni (Lucigen). Os clones resistentes a antibióticos foram sequenciados e analisados quanto a sequências de codificação de anticorpos únicas.

[00377] Uma reação de PCR interna foi então realizada nessas sequências únicas usando a família do segmento V e iniciadores específicos da família do segmento J.

Os amplicons resultantes foram então clonados em plasmídeos de expressão baseados em pTT5 (National Research Council, Montreal, QC). Sequências únicas de cadeia pesada e sequências de cadeia leve emergentes de uma única amostra de hibridoma foram coexpressas em células HEK293-6E (National Research Council) em todas as combinações possíveis para determinar o emparelhamento correto das cadeias pesada e leve. Os anticorpos produzidos foram ensaiados quanto à ligação ao antígeno que foi transitoriamente expresso em células HEK293.

Resultados

[00378] Dos 24 anticorpos inicialmente identificados como de ligação a 4-1BB humano, um total de 18 sequências VH e VL de anticorpos emparelhadas (mostradas na Tabela 13) foram obtidas a partir dos hibridomas e clonadas no vetor pTT5 como anticorpos quiméricos humano-camundongo, com domínios VH e VL de camundongo e um Fc de IgG1 humano. Domínios VH de camundongo foram clonados em estrutura com um construto CH1-dobradiça-CH2-CH3 humano e domínios VL de camundongo clonados em estrutura com o domínio CL humano kappa.

Expressão de anticorpos quiméricos 4-1BB

[00379] Os 18 anticorpos quiméricos de 4-1BB camundongo-humano foram produzidos por transfecção de dois plasmídeos em células HEK293-6E, um plasmídeo contendo a cadeia pesada e o outro plasmídeo contendo a cadeia leve.

[00380] As células HEK293-6E foram divididas 1:10 72 horas antes da transfecção para assegurar células em fase de crescimento. Essas células foram então contadas e ressuspensas a 10^6 célulasml^{-1} em OptiMEM™ (Thermofisher). Uma mistura de transfecção foi feita misturando 30 µl de 293fectin ™ (Thermofisher) e 1,5 ml de OptiMEM™. Esta mistura foi então incubada à temperatura ambiente. Após cinco minutos, foram adicionados 1,5 ml OptiMEM™ e 15 µg de cada um dos plasmídeos contendo as cadeias pesadas ou leves do anticorpo no vetor pTT5. Esta mistura foi então deixada à temperatura ambiente durante 20 minutos e, em seguida, adicionada gota a gota às células, com um volume total de 3ml. As células foram então deixadas a 37°C em uma atmosfera de 5% de CO2 em uma incubadora com agitação a 120 rpm por cinco dias.

[00381] Em alguns casos, os níveis de anticorpos no sobrenadante foram quantificados usando um Octet™ RED96 (ForteBio) com uma ponta de proteína A e os

sobrenadantes usados imediatamente nos ensaios.

[00382] Os sobrenadantes também foram purificados usando Proteína A. Para purificar os anticorpos, as células foram primeiro removidas dos sobrenadantes do anticorpo por centrifugação a 1000rcf por 15 minutos. As colunas de Proteína A Gravitrap™ foram então preparadas por equilíbrio usando 10 ml de PBS, seguido pela aplicação do sobrenadante do anticorpo em lotes de 10 ml. Assim que todo o sobrenadante fluiu através da coluna, a coluna foi lavada duas vezes, cada vez com 10 ml de PBS. A eluição do anticorpo foi realizada pela adição de 3 ml de glicina-HCl 0,1 M, pH 2,7. A amostra de anticorpo eluída foi então neutralizada usando Tris-HCl 1M, pH 9.

[00383] Para concentrar a amostra de anticorpo e realizar uma troca de tampão, as amostras de anticorpo foram carregadas em uma coluna de rotação do concentrador de proteína Vivaspin™ 30kDa MWCO (GE Healthcare). As colunas foram então giradas a 3000rcf por 7 minutos para concentrar o anticorpo. 4 ml de PBS foram então adicionados à coluna para trocar os tampões, e a coluna foi então girada novamente, para trocar os tampões em PBS. Os níveis de anticorpo na solução resultante foram então medidos usando a razão de absorbância de 260nm / 280nm usando um Espectrofotômetro Nanodrop™ (Thermofisher).

EXEMPLO 7: Atividade de anticorpos quiméricos 4-1BB no ensaio repórter 4-1BB NF-kB-Luciferase

[00384] Para testar a capacidade dos anticorpos quiméricos de 4-1BB de camundongo-humano para estimular a ativação de 4-1BB e a sinalização a jusante, foi usado um ensaio de gene repórter. As células usadas neste experimento produzem luciferase sob o controle do promotor NF-kB quando a sinalização é induzida pela ligação do receptor 4-1BB.

[00385] Esta experiência foi realizada de uma maneira semelhante à descrita no Exemplo 3, exceto que os sobrenadantes do anticorpo foram usados no lugar dos anticorpos biespecíficos e não foram usadas células tumorais. Os sobrenadantes do anticorpo foram diluídos em Tampão de Ensaio (RPMI (Gibco) / 1% FBS (Gibco)) para 5.000 ng / ml, 1.666 ng / ml, 554 ng / ml e 184 ng / ml. O anticorpo secundário policlonal de coelho anti-IgG Fc humano (Thermofisher) foi então adicionado a uma concentração de 15.000 ng / ml e a mistura de anticorpos deixada à temperatura ambiente.

[00386] Após 45 minutos, 30 µl da mistura de anticorpos foram adicionados

aos poços. Se a concentração de anticorpo no sobrenadante fosse inferior a 5.000 ng / ml, os sobrenadantes eram diluídos do puro (v20023, v20025, v20028, v22033, v22034). Como um controle positivo, v12592 foi diluído em sobrenadante (ESN) ou RPMI. O controle negativo foi v16992 diluído em ESN. Células Jurkat 4-1BB Descongelar e usar (Promega) foram então adicionadas, seguido por uma incubação de 5 horas e, em seguida, reagente Bio-Glo™ (Promega) foi adicionado, conforme descrito no Exemplo 3. Os dados foram adquiridos e analisados como no Exemplo 3.

Resultados

[00387] Oito anticorpos induziram a produção de luciferase: v20021, v20022, v20023, v20025, v20029, v20032, v20036, v20037 sugerindo que agonizam 4-1BB (Figura 7). Esses anticorpos foram então purificados do sobrenadante e levados adiante para avaliar a quais domínios 4-1BB eles se ligaram.

EXEMPLO 8: Determinação da ligação do domínio 4-1BB

[00388] Para determinar quais domínios de 4-1BB humano os anticorpos quiméricos reconheceram, os anticorpos quiméricos foram testados quanto à ligação a 4-1BB humano, 4-1BB de cachorro e uma proteína 4-1BB humano-cachorro quimérica. A proteína 4-1BB humano-cachorro incluiu um conjunto de mutações dentro do domínio 4 que modificou 4-1BB humano para cachorro.

Preparação de 4-1BB humano, cachorro e humano-cachorro

[00389] Para gerar construtos de expressão para 4-1BB humano, cachorro e humano-cachorro, foi feito DNA sintetizado possuindo 4-1BB ECD-TEV-IgG1 dobradiça-CH2-CH3-10xHis. A Tabela 4 abaixo fornece as sequências desses construtos e a Figura 8A fornece uma representação da porção 4-1BB desses construtos. Os domínios extracelulares de 4-1BB de cachorro e humano incluíram os resíduos 24-186 da sequência da proteína 4-1BB tirada de Uniprot (IDs E2R1R9 e Q07011 para 4-1BB de cachorro e humano, respectivamente). As mutações na quimera cachorro-humano para imitar o cachorro 4-1BB no domínio 4 foram K115Q, C121R, R134Q, R154S e V156A (descrito em WO2012 / 032433).

Tabela 4: Construtos de ligação ao domínio 4-1BB

Nome	SEQ ID	Sequência

	NO:	
4-1BB humano	39	LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDI CRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCE QDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLD GKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAREPG HSPQENLYFQSPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGKGGHHHHHHHHHH
4-1BB cachorro-humano	40	LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDI CRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCE QDCKQGQELTKQGCKDCRFGTFNDQKRGICQPWTNCSL DGKSVLVNGTKESDAVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAREP GHSPQENLYFQSPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGKGGHHHHHHHHHH
4-1BB de cachorro	41	IQDSCSKCPAGTFCGKNKSQICIPCPPNSFSSTSGQKACDIC RQCEGVFRTKKVCSPISNAECECISGFHCLGAGCTMCEQD CKQGQELTKQGSCKDCRFGTFNDQKHGICQPWTNCSLDG KSVLVNGTKESDAVCGPASAGFSPGTASATTPAPARDPG HTSQENLYFQSPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF

		FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGKGGHHHHHHHHHH

[00390] Os vetores pTT5 contendo os construtos de expressão 4-1BB foram então produzidos e purificados de uma maneira semelhante aos anticorpos no Exemplo 1, exceto que um volume de cultura de 500 ml foi usado. Os resultados do calibrador indicaram que os construtos 4-1BB humano, cachorro e humano-cachorro quimérico foram preparadas na forma substancialmente pura.

Mapeamento de domínio de anticorpos 4-1BB por ELISA

[00391] Um ELISA de ligação ao antígeno solúvel foi realizado para avaliar a capacidade dos anticorpos de se ligarem fora do domínio 4 de 4-1BB. O objetivo era determinar se as amostras têm ligação diferencial ao 4-1BB híbrido ou quimérico humano-cachorro versus 4-1BB humano para sugerir se a ligação está ou não fora do domínio 4. No entanto, se os anticorpos testados fossem capazes de se ligar ao 4-1BB do cachorro, a avaliação da ligação ao domínio 4 por este método não seria realizada.

[00392] Proteínas solúveis de 4-1BB-Fc humano, cachorro ou humano-cachorro foram preparadas em PBS pH 7,4 (Thermo Fisher, Whetham, MA) a 400 ng / mL. As proteínas 4-1BB-Fc foram adicionadas a 50 µL / poço a poços de placas de ELISA de fundo plano de 96 poços (Corning 3368). As placas foram cobertas por uma tampa, vedadas com parafilme e deixadas durante a noite a 4°C. No dia seguinte, as placas foram lavadas três vezes com 300 µL / poço de água destilada usando um lavador de microplacas BioTek 405 HT (BioTek, Winooski, VT) e batidas para secar. Os poços foram então bloqueados pela adição de 200 µL / tampão de bloqueio de poço (2% p / v de leite em pó desnatado em PBS) e deixados em temperatura ambiente por 1 hora. As placas foram lavadas como anteriormente e batidas para secar. As amostras de anticorpos foram então diluídas em tampão de ensaio (2% p / v de leite em pó desnatado em PBS) para 10 µg / mL final ou usadas puras se as amostras estivessem abaixo de 10 µg / mL. Diretamente nas placas de ensaio, as amostras foram diluídas em série cinco vezes 1:8 em duplicata em tampão de ensaio com um volume final de 50 µL / poço. Da mesma forma, os anticorpos de controle foram preparados e diluídos em tampão de ensaio. Para poços sem amostra de anticorpo, o tampão de ensaio foi adicionado a 50 µL / poço. As placas foram então cobertas com uma tampa, vedadas com parafilme e incubadas durante a noite a 4°C. No dia seguinte, as placas

foram lavadas com o lavador de placas como anteriormente e secas. Para a detecção da ligação da amostra ao antígeno solúvel, foi preparado Peroxidase AffiniPure anti-F(ab')$_2$ humano de cabra (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) em tampão de ensaio a 0,4 µg / mL. Para a detecção do antígeno revestido, foi preparado o anti-Fc humano de cabra Peroxidase AffiniPure (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) em tampão de ensaio a 1 µg / mL. Ambos os secundários foram adicionados a 50 µL / poço e as placas foram incubadas à temperatura ambiente durante 30 minutos. As placas foram lavadas e secas como anteriormente e o substrato TMB (Cell Signaling Technology, Danvers, MA) foi adicionado a 50 µL / poço. Após incubação à temperatura ambiente durante dez minutos, a reação foi neutralizada com HCl 1M (VWR, Radnor, PA). A absorbância da placa em OD450 foi digitalizada no leitor de placas BioTek Synergy™ H1 (BioTek, Winooski, VT).

Resultados

[00393] Como mostrado nas Figuras 9A a Figura 9I, todos os anticorpos quiméricos testados foram capazes de se ligar a 4-1BB humano. No entanto, v20023 e v20029 também se ligaram ao 4-1BB de cachorro, sugerindo que a ligação do domínio desses dois anticorpos não pode ser avaliada por este método. Os anticorpos restantes não se ligaram ao 4-1BB de cachorro.

[00394] v20022, 20025, v20032, v20036 e v20037 mostraram ligação igual em 4-1BB quimérico humano e humano-cachorro, sugerindo que todos estes anticorpos se ligaram fora do domínio 4 (aminoácidos 115-156). MOR7480.1-IgG1 (variante 12592), como esperado, mostrou uma redução da ligação ao 4-1BB quimérico cachorro-humano em comparação com 4-1BB humano, sugerindo que seu domínio de ligação está dentro dos aminoácidos 115-156. v12593, uma versão de Urelumabe com um Fc de IgG1, semelhante aos anticorpos testados, ligou 4-1BB quimérico humano e humano-cachorro igualmente, sugerindo que seu domínio de ligação também está fora dos aminoácidos 115-156. v20027 não mostrou ligação neste experimento e foi excluído de análises futuras.

Ligação de domínio de anticorpos usando proteínas 4-1BB truncadas

[00395] Como alguns dos anticorpos tiveram reação cruzada com o cão 4-1BB, outro método foi necessário para determinar a qual domínio os anticorpos se ligam. Como alternativa, construtos transmembranares truncados 4-1BB foram feitos, onde os domínios 4-1BB 3 e 4 apenas seriam expressos. A Figura 8B fornece uma representação dos

construtos transmembranares truncados 4-1BB que foram feitos.

Construção de vetores de domínio 4-1BB

[00396] Os construtos foram sintetizados com 4-1BB humano de comprimento total (resíduos 24-255) ou domínios extracelulares 3 e 4 (resíduos 86-255) juntamente com a transmembrana humana nativa e partes intracelulares de 4-1BB. O 4-1BB de camundongo de comprimento total também foi clonado. Todos os vetores também continham o peptídeo sinal nativo (MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRS, SEQ ID NO: 42) e foram executados através do SignalP 4.1 (www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/) para predizer a clivagem bem-sucedida do peptídeo sinal. Todos os construtos foram sintetizados na forma 3'-EcoRI-4-1BB-BamHI-5' e clonados em um vetor pTT5 digerido com EcoRI-BamHI.

[00397] Para testar a ligação de anticorpos a 4-1BB, células 293E6 foram transfectadas como antes, exceto que todos os construtos 4-1BB humanos foram cotransfectados com 4-1BB de camundongo, para atuar como uma proteína transportadora. Vinte e quatro horas após a transfecção, $2x10^5$ células foram marcadas com 2,5μg de anticorpo por uma hora em gelo, e então analisadas por citometria de fluxo usando um citômetro Attune (ThermoFisher, Waltham, Massachusetts, EUA). Os anticorpos foram pré-complexados com o reagente Zenon-Alexa-647 (ThermoFisher) usando as instruções do fabricante.

Resultados

[00398] Os resultados desta experiência são mostrados na Figura 10. Todos os anticorpos mostraram ligação a células transfectadas com 4-1BB humano e a células transfectadas com 4-1BB humano e de camundongo. O variante 16992, um anticorpo anti-RSV, foi usado como controle negativo. Como esperado, v12592 mostrou ligação a células transfectadas com o construto apenas 3 e 4 de domínio 4-1BB (aminoácidos 86-255), uma vez que seu domínio de ligação hipotético está entre os aminoácidos 115 e 156 (domínio 4). Os anticorpos v20022, v20023, v20025, v20029, v20032, v20036 e v20037 não mostraram ligação a células transfectadas com o construto 3 e 4 apenas de domínio, sugerindo que todos os anticorpos se ligam fora desses domínios e se ligam a um epítopo pelo menos parcialmente nos aminoácidos 24-85 da proteína 4-1BB madura. Estes dados reforçam as conclusões da experiência da quimera humano-cachorro, de que v20022, v20025, v20029, v20036 e v20037 não ligam o domínio 4.

EXEMPLO 9: Ligação de anticorpos quiméricos anti-4-1BB a 4-1BB Cynomolgus e de camundongo

[00399] Para avaliar a ligação de v20022, v20023, v20025, v20029, v20032, v20036 e v20037 a 4-1BB transmembranar nativo Cynomolgus (*Macaca fascicularis*) e de camundongo (*Mus musculus*), um ensaio de ligação celular homogêneo foi realizado usando a plataforma CellInsight CX5 (Thermo Fisher, Watham, MA). Este experimento usou células que expressam transitoriamente 4-1BB Cynomolgus ou de camundongo.

[00400] Para preparar células para transfecção, células HEK293-6e em suspensão (National Research Council Canada, Montreal, QB) foram cultivadas em 293 Freestyle Media (ThermoFisher, Watham, MA). com 1% de FBS (Corning, Corning, NY) em frascos Erlenmeyer de 250 mL (Corning, Corning, NY) a 37°C, 5% de CO2 em uma incubadora umidificada com rotação a 115 rpm. Antes da transfecção, as células HEK293-6e foram ressuspensas a 1 x 10^6 células / mL em meio 293 Freestyle fresco. As células foram então transfectadas usando o reagente de transfecção 293fectin™ (Thermo Fisher, Watham, MA) a uma razão de 1µg de DNA/10^6 células em meio de soro reduzido Opti-MEM™ (Thermo Fisher, Watham, MA). As células foram transfectadas com vetores de DNA pTT5 contendo tanto macaco cynomolgus de comprimento total 4-1BB com um marcador-etiqueta (CL #11070 SEQ ID NO:43), 4-1BB-marcador de camundongo (CL# 11063 SEQ ID NO: 44) como mostrado na Tabela 5, ou vetor contendo GFP como um controle para a eficiência de transfecção. As células foram incubadas por 24 horas a 37°C, 5% de CO2 em uma incubadora umidificada com rotação a 115 rpm.

Tabela 5: sequências 4-1BB de camundongo ou Cynomolgus

Nome	**SEQ ID NO:**	**Sequência**
Cyno 4-1BB-Marcador	43	MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRSLQDLCSNC PAGTFCDNNRSQICSPCPPNSFSSAGGQRTCD ICRQCKGVFKTRKECSSTSNAECDCISGYHC LGAECSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFG TFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKE RDVVCGPSPADLSPGASSATPPAPAREPGHS PQIIFFLALTSTVVLFLLFFLVLDYKDDDDK

4-1BB-Marcador de camundongo	44	MGNNCYNVVVIVLLLVGCEKVGAVQNSCD NCQPGTFCRKYNPVCKSCPPSTFSSIGGQPNC NICRVCAGYFRFKKFCSSTHNAECECIEGFH CLGPQCTRCEKDCRPGQELTKQGCKTCSLG TFNDQNGTGVCRPWTNCSLDGRSVLKTGTT EKDVVCGPPVVSFSPSTTISVTPEGGPGGHSL QVLTLFLALTSALLLALIFITLLFDYKDDDDK

[00401] As amostras de anticorpos foram preparadas em concentrações puras, 1:4 e 1:16 final em PBS pH 7,4 (Thermo Fisher, Watham, MA) + 2% de FBS em tubos Eppendorf e 30 µl de mistura de anticorpos foram adicionados aos poços de uma placa de fundo ótico preta de 384 poços (ThermoFisher). v12592 foi usado como um controle positivo para a ligação a 4-1BB Cynomolgus e IgG1 humana como um controle negativo. O anticorpo anti-4-1BB LOB12.3 de camundongo (BioXCell, West Lebanon, NH) e seu respectivo controle de isótipo IgG1 de rato (R&D Systems, Minneapolis, MN) foram usados como controles para ligação a camundongo. Uma mistura de células de células HEK293-6e transfectadas (10.000 células por 30 µL), coloração nuclear Vybrant™ DyeCycle™ Violet a 2 µM final (Thermo Fisher) e anti IgG Fc A647 humana de cabra a 0,6 µg/mL (Jackson ImmunoResearch, Westgrove, PA) foi preparada. As células foram agitadas rapidamente para misturar e adicionadas aos poços a 30 µL/poço. A placa foi incubada à temperatura ambiente durante 3 horas antes da digitalização. A análise dos dados foi realizada no CellInsight CX5 com a plataforma de triagem de alto teor HCS (ThermoFisher), usando BioApplication "CellViability" com um objetivo de 10x. As amostras foram varridas no canal de 385 nm para visualizar a coloração nuclear e o canal de 650 nm para avaliar a ligação celular. A intensidade média de fluorescência média do objeto de A647 foi medida no canal 2 para determinar a intensidade de ligação. Esta intensidade foi então dividida pela intensidade da coloração observada nos poços transfectados com GFP para dar uma ligação dobrada induzida pelo anticorpo.

Resultados

[00402] Todos os anticorpos, com exceção de v20020 (1B2) e v20031 (4B1), pareceram se ligar a Cynomolgus 4-1BB (Figura 11A). v12952 foi usado como um controle positivo para a ligação cyno 4-1BB, com hIgG1 sendo seu controle de isótipo

correspondente, que não mostra ligação. Nenhum anticorpo se ligou a 4-1BB de camundongo (Figura 11B). LOB12.3 foi usado como um controle positivo para ligação a 4-1BB de camundongo, com o IgG de rato sendo um controle de isótipo correspondente, que não mostra ligação.

EXEMPLO 10: Humanização de sequências VH e VL de 5G8, 1G1 e 1C8 de camundongo

[00403] Versões humanizadas de três dos anticorpos anti-4-1BB humano de camundongo gerados no Exemplo 6 foram preparadas como descrito abaixo.

[00404] A humanização dos domínios leve variável (VL) e pesado variável (VH) de camundongo 1C8, 1G1 e 5G8 foi realizada como se segue. Alinhamento de sequências de sequências VH e VL de 1C8 de camundongo às respectivas linhagens germinativas humanas identificadas IGHV3-66*03 e IGKV1D-33*01 entre as linhagens germinativas mais próximas, bem como relativamente frequentes em humanos. O alinhamento de sequências de sequências de VH e VL de 1G1 de camundongo às respectivas linhagens germinativas humanas identificou IGHV3-48*03 e IGKV3-11*01 entre as mais próximas, bem como linhagens germinativas relativamente frequentes em humanos. O alinhamento das sequências de 5G8 VH e VL de camundongo às respectivas linhagens germinativas humanas identificou IGHV4-59*08 e IGKV1-16*01 entre as mais próximas, bem como linhagens germinativas relativamente frequentes em humanos. As CDRs, identificadas de acordo com a definição do AbM (ver Tabela A), foram transportadas para a estrutura dessas linhagens germinativas humanas selecionadas. A Figura 12 fornece as sequências das sequências VH (Figuras 12 A-C) e VL resultantes (Figura 12 D-F). Mutações reversas para resíduos de camundongo em tal sequência gerada, em posições julgadas como provavelmente importantes para a retenção da afinidade de ligação para 4-1BB humano, foram incluídas de modo a criar várias sequências humanizadas nas quais a próxima se baseia na anterior, e onde a primeira sequência humanizada contém um número mínimo de mutações reversas ou nenhuma mutação reversa.

[00405] Para 1C8, este processo levou a quatro sequências humanizadas da cadeia pesada variável e três sequências humanizadas da cadeia leve variável. Para 1G1, este processo levou a três sequências humanizadas da cadeia pesada variável e quatro sequências humanizadas da cadeia leve variável. Para 5G8, este processo levou a quatro sequências humanizadas da cadeia pesada variável e quatro sequências humanizadas da cadeia leve

variável. Sequência de cadeia pesada completa contendo domínio variável de cadeia pesada humanizada (VH) e domínios constantes de cadeia pesada hIgG1 (CH1, dobradiça, CH2, CH3), bem como sequência de cadeia leve completa contendo domínio variável de cadeia leve humanizada (VL) e domínio constante de cadeia leve Kappa humana (kappa CL) foram criadas para 1C8, 1G1 e 5G8. Os anticorpos foram então montados de modo que cada cadeia pesada humanizada fosse emparelhada com cada uma das cadeias leves humanizadas, perfazendo um total de doze variantes humanizadas cada para 1C8 e 1G1, e 16 variantes para 5G8, (Tabela 6). As sequências de aminoácidos para cada uma das cadeias pesadas humanizadas e cadeias leves humanizadas são fornecidas na Tabela 14.

Tabela 6: Variantes humanizadas de 1C8, 1G1 e 5G8 e sua composição.

Variante de anticorpo	**Composição**
v20022 1C8 quimera parental camundongo-humano	**HL**
v28717	H5L1
v28719	H5L2
v28720	H5L3
v28721	H6L1
v28722	H6L2
v28723	H6L3
v28724	H7L1
v28725	H7L2
v28726	H7L3
v28727	H8L1
v28728	H8L2
v28730	H8L3
v20023 1G1 quimera parental camundongo-humano	**HL**
v28683	H1L1
v28684	H1L2
v28685	H1L3
v28686	H1L4
v28687	H2L1

v28688	H2L2
v28689	H2L3
v28690	H2L4
v28691	H3L1
v28692	H3L2
v28693	H3L3
v28694	H3L4
v20036 5G8 quimera parental camundongo-humano	**HL**
v28695	H1L1
v28696	H1L2
v28697	H1L3
v28698	H1L4
v28699	H2L1
v28700	H2L2
v28701	H2L3
v28702	H2L4
v28703	H3L1
v28704	H3L2
v28705	H3L3
v28706	H3L4
v28707	H4L1
v28711	H4L2
v28712	H4L3
v28713	H4L4

Produção de anticorpos humanizados

[00406] Cada uma das sequências VH e VL humanizadas 1C8, 1G1 e 5G8 descritas na Tabela 6, bem como as sequências VH e VL parentais de camundongo, foram usadas para preparar anticorpos humanizados no formato de anticorpo FSA ou de ocorrência

natural, contendo duas cadeias pesadas de comprimento total idênticas e duas cadeias leves kappa idênticas. A Tabela X identifica os clones que constituem cada um dos construtos de anticorpos. As sequências polipeptídicas de cada clone podem ser encontradas na Tabela Y.

[00407] Cada uma das sequências de domínio VH humanizado (SEQ ID NOs: 45, 46, 47, 51, 52, 53, 56, 57, 61, 62 e 63) foi anexada à sequência de domínio CH1-dobradiça-CH2-CH3 humana de IGHG1*01 (SEQ ID NO: 68) para obter uma sequência de proteína para quatro sequências da cadeia pesada completa de 1C8 humanizado, três 1G1 humanizado e quatro 5G8 humanizado. Cada uma das sequências de domínio VL humanizado (SEQ ID NOs: 48, 49, 50, 54, 55, 58, 59, 60, 64, 65 e 66) foi anexada à sequência kappa CL humana de IGKC*01 (SEQ ID NO: 67) para obter uma sequência de proteína para três 1C8 humanizado, quatro 1G1 humanizado e quatro sequências de cadeia leve completa 5G8 humanizado. De maneira semelhante, as sequências de cadeia pesada e leve da quimera 1C8, 1G1 e 5G8 camundongo-anticorpo parental humano eram semelhantes, com a diferença de que as sequências de domínio variável foram de camundongo (SEQ ID NOs: 7, 9, 35 (VH) e 8, 10, 36 (VL)) e as sequências de domínio constante eram humanas (SEQ ID NOs: 68 e 67 correspondentemente). Essas sequências foram traduzidas de forma reversa para DNA, otimizadas por códon para expressão em mamíferos e sintetizadas por gene.

[00408] Todas as sequências da cadeia leve e pesada completa humanizadas e parentais de camundongo-humano foram precedidas por um peptídeo sinal que é uma sequência projetada artificialmente MRPTWAWWLFLVLLLALWAPARG [SEQ ID NO: 1] (ref: Barash S et al., Biochem and Biophys Res. Comm. 2002; 294, 835–842). Para todas as cadeias pesadas e leves parentais e humanizadas, os insertos de vetor foram preparados como descrito no Exemplo 1 e clonados em pTT5 para produzir vetores de expressão.

[00409] As cadeias pesadas e leves de variantes de anticorpos foram expressas em 100 mL de culturas CHO e purificadas conforme descrito no Exemplo 1. Após a purificação da proteína A, a pureza das amostras foi avaliada por ensaio de High Throughput Protein Express não redutor e redutor, conforme descrito no Exemplo 1.

[00410] Após a purificação da proteína A, as amostras foram trocadas por tampão em DPBS e filtradas assepticamente ou, dependendo de sua homogeneidade avaliada por UPLC-SEC, submetidas à purificação SEC, conforme descrito no Exemplo 1.

Resultados

[00411] Os rendimentos de proteína pós-purificação da proteína A estavam na

faixa de ~ 3,5-9 mg para variantes 1C8 humanizadas, ~ 4,5-9,5 mg para variantes 1G1 humanizadas e ~ 4,5-8 mg para variantes 5G8 humanizadas. LabChip pós-proteína A não redutora e redutora refletiu uma espécie única correspondente ao anticorpo de tamanho completo e cadeias pesadas e leves intactas em todos os casos (dados não mostrados). Os níveis de endotoxina estavam dentro das especificações.

EXEMPLO 11: Avaliação biofísica de anticorpos 1C8, 1G1 e 5G8 humanizados purificados

[00412] Amostras de variantes de anticorpos humanizados foram submetidas a UPLC-SEC a fim de avaliar a homogeneidade das espécies após a purificação da proteína A. UPLC-SEC foi realizado conforme descrito no Exemplo 1.

Resultados

[00413] A análise UPLC-SEC das variantes do anticorpo 1C8 humanizado purificado da proteína A refletiu a homogeneidade de espécies elevada no caso das variantes 28717, 28719, 28720, 28721 (dados não mostrados). Os perfis UPLC-SEC de todas as outras variantes humanizadas de 1C8 (dados não mostrados) refletiram boa homogeneidade, conforme avaliado pela presença de pequenos picos (provavelmente refletivos de agregados) e ressalto em relação ao pico principal (possivelmente refletivos de diferentes conformações de anticorpos).

[00414] A análise UPLC-SEC das variantes do anticorpo 1G1 humanizado purificado da proteína A foi reflexo da homogeneidade de espécies elevada para as variantes 28683, 28684, 28685 e 28686. Perfis UPLC-SEC de todas as outras variantes 1G1 humanizadas refletiram homogeneidade ligeiramente inferior (dados não mostrados).

[00415] A análise UPLC-SEC das variantes do anticorpo 5G8 humanizado purificado da proteína A mostrou boa homogeneidade de espécies para todas as variantes. A análise UPLC-SEC foi repetida para conjuntos finais de amostras após a purificação de SEC e essas amostras mostraram homogeneidade na faixa de 99,2-100,0% (dados não mostrados).

EXEMPLO 12: Ligação de anticorpos humanizados 1C8, 1G1 e 5G8 a 4-1BB humano por SPR

[00416] Para comparar a capacidade dos anticorpos humanizados de se ligarem ao 4-1BB humano, a afinidade dos anticorpos humanizados foi comparada com os anticorpos quiméricos parentais por Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR).

[00417] O material proteico pós-proteína A ou SEC foi avaliado quanto à ligação ao 4-1BB humano. A afinidade de ligação ao antígeno foi determinada por SPR conforme descrito no Exemplo 2.

Resultados

[00418] Como pode ser visto na Tabela 7 (mostrado no Exemplo 13), o ensaio de ligação a SPR realizado nas variantes 1C8 humanizadas revelou que quatro das variantes do anticorpo 1C8 humanizado (v28726, v28727, v28728, v28730) se ligaram a h4-1BB com afinidade comparável ao anticorpo quimera parental (variante v20022) e oito variantes não se ligaram a h4-1BB. Estas variantes têm em comum as cadeias pesadas 1C8 humanizadas H5 e H6 em combinação com as cadeias leves 1C8 humanizadas L1, L2 ou L3. As cadeias leves 1C8 humanizadas L1 e L2 também não se ligam a 4-1BB quando em combinação com a cadeia pesada 1C8 humanizada H7. Estes resultados sugerem que as mutações reversas para resíduos de camundongo em posições específicas incorporadas na cadeia pesada 1C8 humanizada H8, bem como na cadeia leve 1C8 humanizada L3, são importantes para manter as conformações de CDR de modo que a ligação a h4-1BB possa ser retida. A Figura 13 fornece sensorgramas SPR para a quimera parental e variantes humanizadas representativas que foram capazes de se ligar a 4-1BB humano.

[00419] Como pode ser visto na Tabela 7, o ensaio de ligação a SPR realizado nas variantes 1G1 humanizadas revelou que todas as variantes do anticorpo 1G1 humanizado se ligaram a h4-1BB com afinidade dentro de 2 vezes do KD do anticorpo quimera parental (variante v20023). Isso sugere que as estruturas de cadeia pesada e leve de 1G1 humanizado sem mutações reversas para resíduos de camundongo são suficientes para manter as conformações de CDR necessárias para a ligação a h4-1BB. A Figura 14 fornece sensorgramas SPR para a quimera parental e variantes humanizadas representativas que foram capazes de se ligar a 4-1BB humano.

[00420] O ensaio de ligação a SPR realizado nas variantes 5G8 humanizadas mostrou, como pode ser visto na Tabela 7 e Figura 15, que sete variantes de anticorpos 5G8 humanizados (v28700, v28704, v28705, v28706, v28711, v28712, v28713) se ligaram a h4-1BB com afinidade dentro de 2 vezes do KD do anticorpo quimérico parental (variante v20036). Sete variantes 5G8 humanizadas ligaram h4-1BB com afinidade reduzida 2-3x em comparação com o KD do anticorpo quimera parental (v28696, v28697, v28698, v28701, v28702, v28703, v28707) e duas variantes não ligaram h4-1BB. Estas duas variantes têm em

comum a cadeia leve L1 humanizada. As sete variantes 5G8 com afinidade ligeiramente diminuída para 4-1BB têm em comum a cadeia pesada humanizada H1 ou H2, ou a cadeia pesada humanizada H3 ou H4 em combinação com a cadeia leve humanizada 1. Os resultados para o anticorpo 5G8 humanizado sugerem que as mutações reversas para resíduos de camundongo em posições específicas incorporadas em L2, bem como em H3, são necessárias para manter as conformações de CDR necessárias para ligar h4-1BB com um KD comparável à variante quimera parental v20036.

EXEMPLO 13: Comparação de ligação de variantes humanizadas por citometria de fluxo

[00421] Para examinar a ligação de anticorpos à superfície celular nativa expressa em 4-1BB, um ensaio de ligação por citometria de fluxo foi realizado conforme descrito abaixo.

[00422] Células T Jurkat engenheiradas para expressar de forma estável 4-1BB humano foram usadas para medir a ligação de anticorpos a 4-1BB humano. Os anticorpos foram diluídos em 50 µl de FB (PBS 2% FCS) 1:3 do estoque em poços de uma placa de 96 poços em V e as células adicionadas no topo. As células foram então deixadas em gelo por 30 minutos para os anticorpos se ligarem. As células foram então lavadas duas vezes em FB e, em seguida, incubadas em 50µl de FB contendo 2µg / ml de anticorpo de cabra anti-Alexa647 humano (Jackson Immunoresearch). As células foram então deixadas em gelo por mais 20 minutos, lavadas duas vezes em FB, ressuspensas em 100 µl de FB e analisadas em um BD Fortessa™ X20. Os arquivos de dados subsequentes foram analisados usando FlowJo™ e Prism 7 (GraphPad) usando uma regressão não linear de quatro parâmetros.

Resultados

[00423] As Figuras 16A, 16B e 16C representam a capacidade dos anticorpos humanizados 1C8, 1G1 e 5G8, respectivamente, de se ligarem a células T Jurkat que expressam 4-1BB. Semelhante aos resultados de SPR, os anticorpos que derivam do parátopo 1C8 ligaram-se mal, incluindo o anticorpo parental, v20022. O parátopo 1G1 original do camundongo, v22023, ligou-se bem a 4-1BB, como seria de se esperar dos resultados de SPR. Os anticorpos humanizados com base no parátopo 1G1 também se ligaram bem e houve pouca queda na ligação vista como resultado da humanização. Da

mesma forma, os anticorpos 5G8 também se ligaram bem, com alguns anticorpos exibindo maior ligação a 4-1BB quando comparados com o anticorpo quimérico parental camundongo-humano v22036.

[00424] Os resultados dos ensaios de SPR e citometria de fluxo estão resumidos na Tabela 7 abaixo.

Tabela 7: Avaliação da ligação ao antígeno das variantes do anticorpo humanizado por SPR

Variante	SPR		Citometria de fluxo	
	KD médio (M) n=3	Desvio padrão KD (M)	EC50 (M)	EC50 Erro padrão (M)
v20022 1C8 quimera parental camundongo-humano	**5,82E-07**	**1,38E-08**	**1,7298E-08**	**2,0338E-12**
v28717	DNB	-	ND	-
v28719	DNB	-	ND	-
v28720	DNB	-	ND	-
v28721	DNB	-	ND	-
v28722	DNB	-	ND	-
v28723	DNB	-	ND	-
v28724	DNB	-	ND	-
v28725	DNB	-	ND	-
v28726	7,63E-07	5,91E-08	NF	NF
v28727	8,13E-07	3,59E-08	2,42E-08	1,40E-12
v28728	1,42E-06	8,02E-08	7,13E-07	1,38E-11
v28730	7,62E-07	4,69E-08	8,87E-08	1,12E-12
v20023 1G1 quimera parental camundongo-humano	**4,96E-08**	**8,08E-10**	**3,37E-10**	**8,69E-12**
v28683	4,23E-08	1,54E-09	2,23E-10	2,60E-11
v28684	3,85E-08	9,29E-10	2,47E-10	1,78E-11

v28685	3,12E-08	0	5,51E-11	1,71E-08
v28686	3,11E-08	5,77E-11	NF	NF
v28687	4,03E-08	3,51E-10	1,00E-09	2,39E-12
v28688	6,92E-08	1,34E-09	3,60E-10	5,21E-12
v28689	5,83E-08	5,69E-10	4,86E-10	2,32E-12
v28690	3,44E-08	3,51E-10	3,76E-10	1,68E-12
v28691	5,42E-08	1,8E-09	1,44E-09	1,89E-12
v28692	4,64E-08	9,61E-10	7,71E-10	1,89E-12
v28693	3,62E-08	7,77E-10	3,53E-10	3,34E-12
v28694	3,47E-08	4,58E-10	4,55E-10	2,18E-12
v20036 5G8 quimera parental camundongo-humano	**2,66E-07**	**2,09E-08**	**1,69E-08**	**1,48E-12**
v28695	DNB	-	ND	-
v28696	5,74E-07	9,76E-08	NF	NF
v28697	7,35E-07	2,29E-08	NF	NF
v28698	1,11E-06	1,25E-07	3,83E-08	1,35E-12
v28699	DNB	-	4,71E-07	1,80E-12
v28700	2,22E-07	3,95E-08	5,64E-08	1,64E-12
v28701	6,10E-07	1,16E-08	3,00E-08	1,43E-12
v28702	6,20E-07	6,35E-09	5,56E-08	1,46E-12
v28703	8,11E-07	2,21E-08	3,58E-09	1,37E-12
v28704	1,79E-07	2,31E-09	3,46E-09	1,35E-12
v28705	1,95E-07	3,79E-09	3,32E-09	1,37E-12
v28706	1,59E-07	5,77E-10	1,92E-09	2,05E-12
v28707	7,32E-07	3,74E-08	5,16E-08	1,28E-12
v28711	2,27E-07	3,51E-09	1,39E-07	6,05E-12
v28712	2,29E-07	4,36E-09	3,56E-09	1,61E-12
v28713	1,84E-07	6,43E-09	2,34E-09	1,41E-12

DNB = não ligou

ND = não testado

NF = sem ajuste (para modelo de regressão não linear de 4 parâmetros)

EXEMPLO 14: Avaliação da estabilidade térmica de anticorpos humanizados

[00425] A fim de caracterizar completamente as variantes humanizadas de 1C8, 1G1 e 5G8 com afinidade para 4-1BB humano, a estabilidade térmica de amostras de anticorpos selecionadas foi avaliada por calorimetria de varredura diferencial (DSC), conforme descrito abaixo.

[00426] A estabilidade térmica de variantes de anticorpos humanizados 1C8, 1G1 e 5G8 foi medida usando DSC como segue. 400 μL de amostras purificadas principalmente em concentrações de 0,4 mg / mL em PBS foram usados para análise DSC com um DSC VP-Capilar (GE Healthcare, Chicago, IL). No início de cada execução de DSC, 5 injeções em branco de tampão foram realizadas para estabilizar a linha de base e uma injeção de tampão foi colocada antes de cada injeção de amostra para referência. Cada amostra foi varrida de 20 a 100°C a uma taxa de 60°C/h, com baixo feedback, filtro de 8 segundos, termostato de pré-varredura de 3 ou 5 min e pressão de nitrogênio de 70 psi. Os termogramas resultantes foram referenciados e analisados usando o software Origin 7 para determinar a temperatura de fusão (Tm) como um indicador de estabilidade térmica.

Resultados

[00427] Os resultados são mostrados na Tabela 8 abaixo.

Tabela 8: Estabilidade térmica de anticorpos humanizados

Identificador da variante	**Fab Tm (°C)**
v20022 1C8 quimera parental camundongo-humano	**88,1**
v28726	92,0
v28727	93,3
v28730	94,0
v20023 1G1 quimera parental camundongo-humano	**73,2**
v28683	84,0
v28684	84,0
v28685	83,4

v28688	82,7
v28689	81,8
v28692	82,2
v28693	81,1
v20036 5G8 quimera parental camundongo-humano	**82,6**
v28696	90,8
v28700	89,2
v28704	89,9
v28705	90,9
v28711	90,5
v28712	91,4

[00428] Como pode ser visto na Tabela 8, os valores de Fab Tm determinados de variantes selecionadas do anticorpo 1C8 humanizado são ~4-6ºC maiores em comparação com a quimera de camundongo parental v20022. A Figura 17 mostra os termogramas DSC correspondentes das variantes 1C8 que foram testadas.

[00429] Para variantes de anticorpo 1G1 humanizado, como pode ser visto na Tabela 8, os valores de Fab Tm determinados de variantes selecionadas são 9~11ºC mais altos do que a Tm da quimera de camundongo parental v20023. A Figura 18 mostra os termogramas DSC correspondentes das variantes 1G1 que foram testadas.

[00430] Para variantes de anticorpo 5G8 humanizado, como pode ser visto na Tabela 8, os valores de Fab Tm determinados de variantes selecionadas são ~7-9ºC mais altos do que a Tm da quimera de camundongo parental v20036. A Figura 19 mostra os termogramas DSC correspondentes das variantes 5G8 que foram testadas.

EXEMPLO 15: Avaliação da pureza de variantes de anticorpos 1C8, 1G1 e 5G8 humanizados

[00431] A pureza aparente das variantes de anticorpos humanizados preparadas como descrito no Exemplo 10 foi avaliada usando espectrometria de massa após desglicosilação não desnaturante. Amostras de variantes humanizadas foram preparadas e analisadas por LCMS conforme descrito no Exemplo 1.

Resultados

[00432] Todas as variantes de anticorpos 1C8, 1G1 e 5G8 humanizados eram de 100% de pureza de espécie. Um perfil de LC-MS representativo para um dos anticorpos humanizados 1C8 é mostrado na Figura 20.

EXEMPLO 16: Ativação de 4-1BB por anticorpos humanizados

[00433] Para determinar se os anticorpos humanizados retiveram a funcionalidade pós-humanização, eles foram testados no ensaio do gene repórter 4-1BB NF-kB de acordo com o método descrito no Exemplo 3.

Resultados

[00434] Como visto na Figura 21A, 1C8 mostrou uma ligeira queda na potência em comparação com o anticorpo parental v20022, como esperado a partir da ligeira queda na ligação observada na Figura 16A. Semelhante à ligação por citometria de fluxo na Figura 16B, funcionalidade retida de 1G1, com anticorpos mostrando potência semelhante ao anticorpo 4-1BB parental quimérico v20023 (Figura 21B). Os anticorpos humanizados baseados em 5G8, semelhantes aos baseados em 1C8, mostraram uma ligeira diminuição na potência em comparação com o anticorpo parental (Figura 21C).

EXEMPLO 17: Geração de construtos de anticorpo 4-1BB x TAA adicionais

[00435] As experiências descritas nos Exemplos 1-3 identificaram um formato no qual os anticorpos 4-1BB x HER2 foram capazes de reticular 4-1BB e estimular a sinalização de 4-1BB a jusante e a produção de citocina por células T. Para determinar se este efeito foi específico para o direcionamento de HER2 ou tumores que expressam HER2 ou se também pode ser transferido para outros antígenos associados a tumor, anticorpos 4-1BB x mesotelina (MSLN), 4-1BB x NaPi2b e 4-1BB x FRα foram preparados.

Projeto de anticorpos biespecíficos 4-1BB x MSLN, 4-1BB x NaPi2b e 4-1BB x FRα

[00436] Para permitir o teste de diferentes antígenos associados a tumor, os construtos de anticorpo biespecífico foram preparados em um formato semelhante aos construtos biespecíficos 4-1BB x HER2 mais ativos com dois Fab 4-1BB e um scFv TAA no terminal C do Fc, como mostrado na Figura 2B. Como os construtos de anticorpo biespecífico 4-1BB x HER2 descritos no Exemplo 1, estes construtos de anticorpo

biespecífico compreendiam um Fc heterodimérico de IgG1 humano com substituições de aminoácidos de domínio CH3 Het FcA e Het FcB, que conduzem a associação dos dois componentes polipeptídicos Fc. Construtos de anticorpos biespecíficos notados como "FcKO" incluíram as seguintes mutações CH2 projetadas para nocautear ou reduzir a ligação de FcγR: L234A, L235A e D265S. A Tabela 9 resume os construtos de anticorpos que foram preparados e a Figura 22 fornece uma representação dos formatos desses construtos de anticorpos. Os construtos de controle 17717 (mirvetuximabe), 17449 (farletuzumabe), 18490 (RG7787) e 18993 (lifastuzumabe) para cada parátopo TAA também estão representados na Figura 22 e são descritos no Exemplo 18.

Tabela 9: Descrição de anticorpos 4-1BB x TAA

Variante	**TAA alvo**	**Formato (4-1BB x TAA)**	**Parátopo 4-1BB**	**Parátopo TAA**	**Modificações Fc**
v22630	Mesotelina	2 x 1	MOR7480.1	Anetumabe (VHVL)	FcKO
v22353	Mesotelina	2 x 2	MOR7480.1	Anetumabe (VHVL)	FcKO
v22639	Mesotelina	2 x 1	MOR7480.1	RG7787 (VHVL)	FcKO
v22329	Mesotelina	2 x 2	MOR7480.1	RG7787 (VHVL)	FcKO
v22635	NaPi2b	2 x 1	MOR7480.1	MX-35 (VLVH)	FcKO
v22341	NaPi2b	2 x 2	MOR7480.1	MX-35 (VHVL)	FcKO
v22636	NaPi2b	2 x 1	MOR7480.1	Lifastuzumabe (VHVL)	FcKO
v22345	NaPi2b	2 x 2	MOR7480.1	Lifastuzumabe (VHVL)	FcKO
v22638	FRα	2 x 1	MOR7480.1	Mirvetuximabe (VHVL)	FcKO

v12592 (controle)	4-1BB	2 x 0	MOR7480.1	Nenhum	FcWT
v16992 (controle)	RSV	0 x 0	Palivizumabe	Nenhum	FcKO

[00437] As sequências correspondentes ao VH e VL de MOR7480.1 são fornecidas na Tabela 15. As sequências dos scFvs usadas para construir o braço anti-TAA dos construtos de anticorpo são fornecidas na Tabela 16. A Tabela X identifica os clones que constituem cada um dos construtos de anticorpos. As sequências polipeptídicas de cada clone podem ser encontradas na Tabela Y.

Produção de anticorpos 4-1BB x TAA

[00438] Para permitir a produção de anticorpos biespecíficos, os construtos foram feitos de maneira semelhante ao Exemplo 1.

Produção e purificação de anticorpos biespecíficos

Os anticorpos foram produzidos por transfecção de células CHO-2E7 e purificados usando Proteína A e SEC prep, conforme descrito no Exemplo 1. Após a purificação, os anticorpos foram verificados quanto à pureza e ausência de agregação usando LC / MS e UPLC-SEC.

EXEMPLO 18: Quantificação da proteína TAA de superfície em células tumorais

[00439] Para determinar qual limiar de expressão de TAA é necessário no tumor para estimular a sinalização de 4-1BB em células T, os níveis de mesotelina (MSLN), NaPi2b e proteína de superfície FRα foram medidos em várias linhagens de células tumorais. Isto foi obtido usando citometria de fluxo quantitativa usando um conjunto de grânulos com níveis conhecidos de anticorpo ligado conforme descrito abaixo.

[00440] Células tumorais IGROV1, OVCAR3, H441, H661, H226, H1975 e A549 foram cultivadas em RPMI 10% FCS em placas de $10cm^3$. Estas linhagens de células foram escolhidas devido a dados de RNA sugerindo que seriam um conjunto representativo de linhagens de células de ovário e pulmão expressando alto, médio ou baixo MSLN, NaPi2b e FRα. O tampão de dissociação celular (Invitrogen) foi adicionado e as células removidas

da placa por meios mecânicos, se necessário, usando uma pipeta ou um raspador de células. As células foram deixadas em gelo com um nível de excesso predeterminado de anticorpo conjugado, para garantir que as células na suspensão sejam completamente marcadas. Uma série de grânulos com níveis predeterminados de anticorpo de anti-revestimento humano foram usadas como padrões (816; Bangs Laboratories). Os números de receptor por célula foram calculados comparando o nível de fluorescência AlexaFluor647 nas células tumorais com uma curva padrão construída usando os grânulos de calibração.

[00441] Para a conjugação com Alexa Fluor 647, os anticorpos foram trocados por tampão para tampão de bicarbonato de sódio pH 8,4 usando colunas Zeba de 40 kDa. Uma alíquota de cada um do material de tampão trocado foi então feita reagir com 10 eq. de NHS-Alexa Fluor 647 (Thermofisher A20006, 10 mM). Cada reação foi deixada prosseguir protegida da luz à temperatura ambiente durante 90 minutos. Após a incubação, cada reação foi então purificada usando uma coluna Zeba de 40 kDa, pré-equilibrada com PBS pH 7,4. A conjugação foi confirmada por cromatografia SEC (Ex: 650nm, Em: 665nm). A análise SEC também estimou a quantidade de NHS-Alexa Fluor 647 não purificado.

Alvo	Anticorpo Usado	Parátopo anti-TAA
FRα	v17717	Mirvetuximabe
FRα	v17449	Farletuzumabe
mesotelina (MSLN)	v18490	RG7787
NaPi2b	v18993	Lifastuzumabe

Resultados

[00442] A Tabela 10 fornece os resultados da quantificação de TAA de superfície e identifica linhagens de células tumorais com alta, média e baixa expressão de TAAs MSLN, FRα e NaPi2b.

Tabela 10: Quantificação de TAA de superfície em linhagens de células tumorais

Linhagem celular	Origem	MSLN (receptores / célula)	FRα (receptores / célula)	NaPi2b (receptores / célula)
IGROV1	Adenocarcinoma de Ovário	32917	1050311	995590
OVCAR3	Adenocarcinoma de Ovário	288505	553495	1190046

H226	Lung Squamous	1723332	307821	313349
H441	Adenocarcinoma de pulmão	29239	186147	196188
HCC827	Adenocarcinoma de pulmão	41161	177901	558926
H661	Carcinoma de células grandes do pulmão	313615	176107	231227
H1573	Adenocarcinoma de pulmão	201484	136378	141558
H1975	Adenocarcinoma de pulmão	156500	107420	103402
H1563	Adenocarcinoma de pulmão	760672	75326	85979
H1299	Carcinoma de pulmão	71333	39336	45395

EXEMPLO 19: Capacidade de construtos de anticorpo biespecífico 4-1BB x TAA para estimular a atividade de 4-1BB

[00443] Para testar a capacidade dos anticorpos biespecíficos 4-1BB x MSLN, 4-1BB x NaPi2b e 4-1BB x FRα para estimular a atividade de 4-1BB na presença de uma célula tumoral, foi utilizado um ensaio de gene repórter de cocultura.

Ensaio repórter 4-1BB NF-kB-Luciferase

[00444] Esta experiência foi realizada de forma semelhante à experiência no Exemplo 3, exceto que células tumorais H226, H661, H441, H1975, IGROV1, H1299 ou A549 foram usadas. Resumidamente, células NFκB-luc2P / 4-1BB Jurkat foram misturadas com células tumorais em placas revestidas com CD3 e deixadas por 5 horas. A produção de luciferase foi então medida usando substrato Bio-Glo™. Os dados foram analisados usando Prism 7 (GraphPad) e ajuste não linear de inclinação variável de quatro parâmetros.

Resultados

[00445] Os resultados são mostrados nas Figuras 23A e 23B. Os anticorpos 4-1BB x MSLN mostraram atividade em células H226, mas não em células A549. v12592, que é um anticorpo de formato semelhante ao construto de anticorpo biespecífico, mas sem o scFv anti-TAA C-terminal, não mostra atividade neste experimento em qualquer uma das linhagens celulares, sugerindo que a reticulação através do TAA pode ser necessária para função.

[00446] A Figura 24 mostra a atividade do anticorpo 4-1BB x FRα v22638 em células repórter 4-1BB em cocultura com uma série de linhagens de tumor que representam uma faixa de expressão. Quando as células repórter 4-1BB foram cultivadas na presença de v22638 e células tumorais com mais de ~ 150.000 proteínas FRα por célula (IGROV1, H441, H661), foi observada uma ativação dos genes repórter. Em cocultura com células tumorais com níveis mais baixos de FRα, como as células H1299, nenhuma ativação de 4-1BB foi observada. A capacidade do construto 4-1BB x FRα v22638 de estimular a atividade de 4-1BB parecia ser dependente do nível de expressão de FRα pelas células tumorais neste experimento de cocultura. v22638 mostrou atividade em células FRα^{high} IGROV1 e FRα^{mid} H441 e células H661 mas não mostrou atividade em células FRα^{low} A549 ou H1975.

Ensaio de cocultura de células T primárias-tumor

[00447] Semelhante ao Exemplo 5, células T CD8+ foram cultivadas com células tumorais IGROV1, OVCAR3, H441, H661, H226, H1975 ou A549 e células aAPC / CHO-K1. Após quatro dias, os sobrenadantes foram retirados e o IFNγ medido por HTRF. GraphPad Prism v7 foi usado para análise de dados, usando o modelo não linear de quatro parâmetros.

Resultados

[00448] Semelhante aos resultados observados com o ensaio do gene repórter, os anticorpos biespecíficos induziram a produção de citocinas por células T quando em cocultura com células tumorais que expressam o antígeno tumoral de reticulação. O anticorpo 4-1BB x MSLN v22630 induziu a produção de IFNγ por células T quando cocultivadas com células H226 que expressam níveis elevados de MSLN, mas não outras células tumorais que expressam <300.000 moléculas MSLN / célula (Figura 25B). v22638, que é um anticorpo biespecífico direcionado a 4-1BB e FRα mostra atividade em células T em cocultura com células IGROV1, OVCAR3 e H441, sugerindo um corte semelhante para expressão de ~200.000 moléculas de FRα /célula (Figura 25C). O construto de anticorpo NaPi2b x 4-1BB v22345 foi capaz de intensificar a produção de IFNγ por células T cocultivadas com células NaPi2b^{high} IGROV1 ou OVCAR3 e células NaPi2b^{mid} H441, mas não células NaPi2b$^{mid-low}$ H661, H226, A549 ou H1975. Isso sugere que um limite de ~

200.000-300.000 moléculas de NaPi2b / célula é necessário para a função *in vitro* (Figura 25A). Nenhum efeito de v12592, o anticorpo parental 4-1BB sem um braço de reticulação TAA, foi visto nas células T em cocultura com qualquer uma das linhagens de células tumorais, sugerindo que a reticulação através do braço TAA era absolutamente necessária para atividade (Figura 25D).

EXEMPLO 20: Preparação de anticorpos 4-1BB x FRα adicionais

[00449] Construtos de anticorpo 4-1BB x FRα adicionais (anticorpos) foram preparados de acordo com os métodos descritos no Exemplo 1. A Tabela 11 descreve as composições desses anticorpos 4-1BB x FRα adicionais, enquanto a Figura 26 fornece uma representação dos formatos de anticorpos exemplificativos. Estes construtos de anticorpo 4-1BB x FRα foram construídos usando um subconjunto dos parátopos anti-4-1BB de camundongo descritos no Exemplo 7 que mostraram ser agonísticos para 4-1BB e os parátopos anti-FRα mirvetuximabe, parátopo de coelho 1H06, e parátopo de coelho 8K22. Os paratopos FRα 1H06 e 8K22 são novos parátopos anti-FRα de coelho gerados conforme descrito no Exemplo 23.

Tabela 11: Composição de anticorpos 4-1BB x FRα

Variante	**Formato (4-1BB x FRα)**	**Parátopo 4-1BB**	**Parátopo FRα**
v23646	2 x 1	1C8	1H06 (VHVL)
v23649	2 x 1	5G8	1H06 (VHVL)
v23651	2 x 1	1C8	Mirvetuximabe (scFv)
v23656	2 x 1	1C8	8K22 (VLVH)
v23657	2 x 1	2E8	8K22 (VLVH)
v23658	2 x 1	4E6	8K22 (VLVH)
v23659	2 x 1	5G8	8K22 (VLVH)
v23660	2 x 1	6B3	8K22 (VLVH)
v23661	2 x 1	1C8	1H06 (VLVH)
v23662	2 x 1	2E8	1H06 (VLVH)
v23663	2 x 1	4E6	1H06 (VLVH)
v23664	2 x 1	5G8	1H06 (VLVH)

v23665	2 x 1	6B3	1H06 (VLVH)
v20022	2 x 0	1C8	Nenhum
v20036	2 x 0	5G8	Nenhum
v12592 (controle de anticorpo anti-4-1BB monoespecífico)	2 x 0	MOR7480.1	Nenhum
v16976 (controle negativo, anticorpo CR8071 com modificações Het FcA, FcB e FcKO Fc)	0 x 0	Nenhum	Nenhum
v17721 (controle de anticorpo anti-FRα de um braço)	0 x 1	Nenhum	Mirvetuximabe (scFv)

[00450] A Tabela X identifica os clones que constituem cada um dos construtos de anticorpos. As sequências polipeptídicas de cada clone podem ser encontradas na Tabela Y.

[00451] Os anticorpos expressos e purificados foram então testados conforme descrito nos Exemplos 21 e 22.

EXEMPLO 21: Caracterização de construtos de anticorpo 4-1BB x FRα que se ligam a 4-1BB e FRα

[00452] Para testar a capacidade dos construtos de anticorpo 4-1BB x FRα produzidos no Exemplo 20 de se ligar a 4-1BB, a afinidade desses construtos para 4-1BB

humano foi medida por SPR e por citometria de fluxo.

SPR

[00453] Variantes purificadas por SEC foram avaliadas quanto à ligação a 4-1BB humano. A afinidade de ligação ao antígeno foi determinada por SPR de acordo com o método descrito no Exemplo 2. Um resumo dos dados de ligação SPR é fornecido na Tabela 12.

Tabela 12: Dados de ligação para anticorpos biespecíficos 4-1BB x FRα

Variante	**KD (M)**
v12592	$1,87 \times 10^{-8}$
v23656	$4,8 \times 10^{-7}$
v23657	$1,75 \times 10^{-7}$
v23658	$4,99 \times 10^{-7}$
v23659	$2,08 \times 10^{-7}$
v23660	$3,64 \times 10^{-7}$
v23661	$5,35 \times 10^{-7}$
v23662	$1,55 \times 10^{-7}$
v23663	$5,02 \times 10^{-7}$
v23664	$2,2 \times 10^{-7}$
v23665	$4,64 \times 10^{-7}$

[00454] Todos os anticorpos 4-1BB x FRα testados mostraram ligação a 4-1BB e tinham um KD representando afinidade que estava entre aproximadamente 20-100 vezes menor do que o anticorpo de controle anti-4-1BB MOR7480.1 (v12592) conforme medido por SPR.

Ligação de construtos de anticorpo 4-1BB x FRα a células T Jurkat que expressam 4-1BB por citometria de fluxo

[00455] Para examinar a ligação desses anticorpos à superfície celular nativa expressa em 4-1BB, um ensaio de ligação por citometria de fluxo foi realizado.

[00456] Células T Jurkat engenheiradas para expressar de forma estável 4-1BB humano foram usadas para medir a ligação de anticorpos a 4-1BB humano. Os

anticorpos foram diluídos em 50 µl de FB (PBS 2% FCS) 1:3 do estoque em poços de uma placa de 96 poços em V e as células adicionadas no topo. As células foram então deixadas em gelo por 30 minutos para os anticorpos se ligarem. As células foram então lavadas duas vezes em FB e incubadas em 50µl de FB contendo 2µg / ml de anticorpo de cabra anti-Alexa647 humano (Jackson Immunoresearch). As células foram então deixadas em gelo por mais 20 minutos, lavadas duas vezes em FB, ressuspensas em 100 µl de FB e analisadas em um BD Fortessa™ X20. Os arquivos de dados subsequentes foram analisados usando FlowJo™ e Prism™ 7 (GraphPad) usando uma regressão não linear de quatro parâmetros.

Resultados

[00457] Todas as variantes, exceto v23663, mostraram ligação. Semelhante aos resultados de SPR, os anticorpos testados neste experimento mostraram menor afinidade em comparação com v12592 (Figura 27A a 27F). A Figura 27F mostra os resultados para a variante de controle 22638, um anticorpo biespecífico 4-1BB x FRα com MOR7480.1 (4-1BB) e parátopos mirvetuximabe (FRα).

Ligação de construtos de anticorpo 4-1BB x FRα a FRα expresso em células 293E por citometria de fluxo

[00458] Para examinar a ligação de anticorpos a FRα expressos na superfície celular, células 293E foram transfectadas transitoriamente com FRα de comprimento total (SEQ ID NO: 80). Os anticorpos foram diluídos em 50 µl de FB (PBS 2% FCS) 1:3 do estoque em poços de uma placa de 96 poços em V e as células adicionadas no topo. As células foram então deixadas em gelo por 30 minutos para os anticorpos se ligarem. As células foram então lavadas duas vezes em FB e incubadas em 50 µl FB contendo 2µg / ml de anticorpo de cabra anti-Alexa647 humano (Jackson Immunoresearch). As células foram então deixadas em gelo por mais 20 minutos, lavadas duas vezes em FB, ressuspensas em 100 µl de FB e analisadas em um BD Fortessa™ X20. Os arquivos de dados subsequentes foram analisados usando FlowJo™ e Prism 7 (GraphPad).

Os resultados são mostrados na Figura 28 e demonstram que todos os anticorpos mostraram ligação a FRα. A amostra contendo o 8K22 scFv (Figura 28A) mostrou maior ligação do que o 1H06 scFv (Figura 28B), sugerindo que é de maior afinidade como um scFv. Os anticorpos contendo um scFv mirvetuximabe (Figura 28C) mostraram ligação intermediária entre 8K22 e 1H06, sugerindo que sua afinidade é entre os dois.

EXEMPLO 22: Ativação de células T por anticorpos biespecíficos 4-1BB x FRα

[00459] Após a confirmação da ligação de anticorpos 4-1BB x FRα a 4-1BB e FRα, os anticorpos biespecíficos foram examinados em um ensaio de atividade de células T primárias. O experimento avaliou a capacidade de 4-1BB de estimular a produção de IFNγ pelas células T na cultura. A cocultura de células T com células tumorais permitiu a investigação da reticulação dos anticorpos 4-1BB por TAA em células tumorais. As células IGROV1 foram escolhidas devido à sua alta expressão de FRα e A549 para baixa expressão de FRα.

[00460] O método usado foi semelhante ao usado no Exemplo 5. Anticorpos biespecíficos, células T CD8+ e células tumorais IGROV1 ou A549 foram cultivadas juntamente com células aAPC / CHO-K1. Após quatro dias, os sobrenadantes foram retirados e o IFNγ medido por HTRF.

Resultados

[00461] Todos os anticorpos 4-1BB x FRα estimularam a produção de IFNγ por células T quando em cocultura com células $FR\alpha^{high}$ IGROV1 (Figura 29A e 29B). Em cultura com células $FR\alpha^{low}$ A549, não houve efeito dos anticorpos 4-1BB x FRα vistos nas células T, sugerindo que esta linhagem celular pode não expressar FRα a um nível suficiente para os anticorpos 4-1BB x FRα para estimular a produção de IFNγ por células T. Na ausência de um braço de direcionamento de tumor, os anticorpos monoespecíficos 4-1BB v12592, v20022 e v20036 não puderam estimular a produção de citocinas quando em cultura com células IGROV1 ou A549 (Figura 29C). v22368 atuou como um controle positivo e comparador.

[00462] Também foi descoberto que a afinidade do anticorpo 4-1BB não afetou a resposta das células T neste experimento. A diferença na atividade entre os anticorpos pode ser devido à diferença na ligação entre os scFvs de 1H06 e 8K22 (8K22 demonstrou maior ligação a FRα por citometria de fluxo do que 1H06, e também mostrou maior atividade na estimulação da produção de IFNγ).

EXEMPLO 23: Geração de anticorpos de coelho que ligam FRα humano

[00463] Os anticorpos para o receptor alfa de folato (FRα) foram produzidos

em coelhos imunizados com o antígeno do receptor 1 de folato humano marcado com HIS (FRα-HIS, AcroBiosystems Cat#FO1-H82E2). Os parátopos 8K22 e 1H06 descritos no Exemplo 20 foram identificados pelo método descrito aqui.

[00464] Resumidamente, coelhos brancos da Nova Zelândia receberam uma injeção primária seguida por 4 reforços adicionais do antígeno FRα-HIS misturado com adjuvante. Cada um dos reforços foram separados por 14 dias. Os títulos de anticorpos anti-FRα humanos foram determinados por FACs usando células CHO FRα humanas que expressam transitoriamente para escolher qual animal colher para células B.

Recuperação de células B e descoberta de anticorpos anti-FRa humanos por SLAM:

[00465] Coelhos imunizados com títulos desejados de cerca de 100.000 foram sacrificados e os baços colhidos. As células linfoides foram dissociadas por trituração em tampão FACs (PBS 2% FBS) para liberar as células dos tecidos. As células foram peletizadas e depois suspensas durante 1 min em 5 ml de BD Pharm Lyse para lisar glóbulos vermelhos. Volume igual de tampão FACs foi adicionado para neutralizar o Pharm Lyse e a amostra de linfócitos resultante foi peletizada e suspensa em tampão FACs.

[00466] A suspensão de linfócitos foi então corada com Alexa-Fluor 647 anti-IgG de coelho para identificar células B IgG+. Após 30 min de coloração, as células B IgG+ foram classificadas em um FACSAria (BD Biosciences) e contadas. Using the Selected Lymphocyte Antibody Method (SLAM) (Proc Natl Acad Sci U S A. 1996 Jul 23; 93(15): 7843–7848. John Babcook et al), as células B foram semeadas em diferentes densidades que variam de uma única célula até 50 células em uma placa de 384 poços, expandidas em cultura por 7 dias e os sobrenadantes colhidos para detectar anticorpos anti-FRα humanos. As placas de 384 poços foram congeladas em um freezer de -80 C.

[00467] Os sobrenadantes foram rastreados para anticorpos monoclonais específicos de FRα humano por ELISA. Placas de ELISA de 384 poços foram revestidas com 25 µL / poço de FRα-HIS humano (2 µg / mL) em PBS e, em seguida, incubadas a 4°C durante a noite. Após a incubação, as placas foram lavadas com água 2 vezes. 90µL / poço de tampão de bloqueio (2% de leite desnatado, PBS) foram adicionados e as placas incubadas em temperatura ambiente por 1 hora. Após a incubação, as placas foram lavadas e 12,5 µL / poço de anticorpo contendo sobrenadantes + 12,5 µl de Tampão de Bloqueio, e os controles positivo e negativo foram adicionados e as placas incubadas em temperatura ambiente por 2

horas.

[00468] Após a incubação, as placas foram lavadas, 25µl de 0,4 ug / ml de anticorpo de detecção de anti-IgG Fc-HRP de coelho de cabra foram adicionados a cada poço e as placas foram incubadas em temperatura ambiente por 1 hora. Após a incubação, as placas foram lavadas e 25µl de TMB foram adicionados e as placas deixadas se desenvolver por cerca de 10 minutos (até que os poços de controle negativo mal começassem a apresentar cor). Em seguida, 25µl de solução de parada (1N HCL) foram adicionados a cada poço e as placas lidas em um leitor de placas ELISA no comprimento de onda de 450 nm.

Sequenciamento de anticorpos monoclonais anti-FRα humanos:

[00469] Os poços contendo anticorpos com as características desejadas foram tratados com tampão de lise de RNA (Qiagen RNeasy) para resgate molecular de cadeias pesadas e leves de anticorpos. A PCR inicial de sequências de codificação de anticorpos de cadeia pesada e leve foi realizada usando iniciadores e métodos modificados de Babcook *et al*. (Proc Natl Acad Sci USA 1996 Jul 23; 93(15): 7843) and von Boehmer *et al*. (Nat Protoc. 2016 Oct; 11(10): 1908), com cDNA como modelo de ácido nucleico. Os produtos de PCR foram clonados no vetor pCRTOPO4 usando o kit Zero Blunt™ TOPO™ PCR Cloning (Thermofisher Scientific) e transformados em células de E. cloni™ (Lucigen). Os clones resistentes a antibióticos foram sequenciados e analisados quanto a sequências de codificação de anticorpos únicas.

[00470] Uma reação de PCR interna foi então realizada nessas sequências únicas usando a família do segmento V e iniciadores específicos da família do segmento J. Os amplicons resultantes foram então clonados em plasmídeos de expressão baseados em pTT5 (National Research Council of Canada). Sequências únicas de cadeia pesada e sequências de cadeia leve emergentes de uma amostra de poço único foram coexpressas em células HEK293-6E (National Research Council of Canada) em todas as combinações possíveis para determinar o emparelhamento correto das cadeias pesada e leve. Os anticorpos produzidos foram ensaiados quanto à ligação ao antígeno que foi transitoriamente expresso em células HEK293.

EXEMPLO 24: Humanização de sequências VH e VL de 8K22 de coelho

[00471] Um anticorpo de coelho anti-receptor alfa de folato humano (anti-

hFRα), 8K22, que foi gerado como descrito no Exemplo 23, foi humanizado como descrito abaixo.

[00472] O alinhamento de sequências das sequências VH e VL 8K22 de coelho com as respectivas sequências da linhagem germinativa humana identificou IGHV3-66* 01 e IGKVI-39*01 como as sequências da linhagem germinativa humana mais próximas, bem como frequentes. CDRs de acordo com a definição AbM (<http://www.bioinf.org.uk/abs/#cdrdef>) foram transportados para a estrutura dessas sequências de linhagem germinativa humana selecionadas, conforme mostrado na Figura 40. Mutações reversas para resíduos de coelho nas sequências resultantes em posições consideradas provavelmente importantes para a retenção da afinidade de ligação ao antígeno, hFRα, foram incluídas criando várias sequências humanizadas nas quais sequências geradas em sua maior parte construídas na sequência anterior, e onde a primeira sequência humanizada (H1 e L1, Tabela 19) continha o número mínimo de mutações reversas. Nenhuma das variantes modificou as CDRs do anticorpo 8K22 conforme definido pelo método AbM.

[00473] Este processo forneceu cinco sequências humanizadas da cadeia pesada variável e cinco sequências humanizadas da cadeia leve variável. Sequências de cadeia pesada completa contendo domínio variável de cadeia pesada humanizada (VH) e domínios constantes de cadeia pesada hIgG1 (CH1, dobradiça, CH2, CH3), e sequência de cadeia leve completa contendo domínio variável de cadeia leve humanizada (VL) e domínio constante de cadeia leve Kappa humana (kappa CL) foram montadas. As variantes do anticorpo monoclonal (mAb) foram então montadas de modo que cada uma das cadeias pesadas humanizadas fosse emparelhada com cada uma das cadeias leves humanizadas, fornecendo um total de vinte e cinco variantes humanizadas a serem avaliadas experimentalmente (Tabela 19).

EXEMPLO 25: Produção de anticorpo 8K22 humanizado

[00474] Os anticorpos 8K22 humanizados descritos no Exemplo 24 e Tabela 19 foram preparados como se segue.

[00475] Cada um dos construtos 8K22 humanizados, bem como o construto 8K22 parental, estavam no formato de ocorrência natural ou FSA, contendo duas cadeias pesadas de comprimento total idênticas e duas cadeias leves kappa idênticas. As sequências de aminoácidos de cada uma das cadeias pesadas variáveis e cadeias leves variáveis do

anticorpo são fornecidas na Tabela 20. Cada uma das sequências de domínio VH humanizado (SEQ ID NOs: 307, 308, 309, 310 e 312) foi anexada à sequência de domínio CH1-dobradiça-CH2-CH3 humana de IGHG1*01 (SEQ ID NO: 318) para fornecer cinco sequências de cadeia pesada completa de 8K22 humanizadas. Cada uma das sequências de domínio VL humanizado (SEQ ID NOs: 313, 314, 315, 316 e 317) foi anexada à sequência CL kappa humana de IGKC*01 (SEQ ID NO: 67) para fornecer cinco sequências de cadeia leve 8K22 humanizadas. De maneira semelhante, as sequências de cadeia pesada e leve da quimera de anticorpo parental humano 8K22 de coelho foram montadas, com a diferença de que as sequências de domínio variável eram de coelho (SEQ ID NOs: 298 (VH) e 299 (VL)) e as sequências de domínio constante eram humanas (SEQ ID NOs: 318 (cadeia CH1-dobradiça-CH2-CH3) e 67 (sequência CL de IGKC*01)). Essas sequências foram traduzidas de forma reversa para DNA, otimizadas por códon para expressão em mamíferos e sintetizadas por gene. As sequências VH e VL humanizadas são fornecidas na Tabela 20.

[00476] Insertos de vetor de cadeia pesada compreendendo um peptídeo de sinal (sequência projetada artificialmente: **MRPTWAWWLFLVLLLALWAPARG** (SEQ ID NO: 1) (Barash *et al*., (2002), *Biochem and Biophys Res. Comm.*, 294: 835-842)) e o clone de cadeia pesada que termina em G446 (numeração EU) de CH3 foram ligados em um vetor pTT5 para produzir vetores de expressão de cadeia pesada. Insertos de vetor de cadeia leve compreendendo o mesmo peptídeo sinal foram ligados em um vetor pTT5 para produzir vetores de expressão de cadeia leve. Os vetores de expressão da cadeia pesada e leve resultantes foram sequenciados para confirmar o quadro de leitura correto e a sequência do DNA codificador.

[00477] As cadeias pesadas e leves das variantes de anticorpo foram expressas em culturas de 400 ml de células CHO-3E7. Resumidamente, as células CHO-3E7, a uma densidade de 1,7-2 x 10^6 células/ml, viabilidade > 95%, foram cultivadas a 37°C em meio FreeStyle™ F17 (ThermoFisher, Watham, MA) suplementado com glutamina 4mM (GE Life Sciences, Marlborogh, MA) e 0,1% Pluronic® F-68 (Gibco, Life Technologies). Um volume total de 400ml foi transfectado com um total de 400ug de DNA (200ug de DNA de anticorpo e 200ug de GFP / AKT / DNA stuffer) usando PEI-max (Polyscience, Philadelphia, PA) a uma razão DNA:PEI de 1:4 (P/P). Vinte e quatro horas após a adição da mistura de DNA-PEI, ácido valproico 0,5 mM (concentração final) + 1% p / v Triptona (concentração final) + 1x antibiótico / antimicóticos (GE Life Sciences, Marlborogh, MA)

foram adicionados a as células foram então transferidas a 32°C e incubadas durante 9 dias antes da colheita. A quimera parental coelho-anticorpo humano 8K22 foi expressa de uma maneira semelhante em uma cultura de 1L.

[00478] Amostras de sobrenadantes clarificadas foram incubadas em lote com resina mAb Select SuRe (GE Healthcare, Chicago, IL) limpa no local (CIP'd) com NaOH e equilibrada em PBS de Dulbecco (DPBS). A resina foi vertida em colunas CIP'd, as colunas foram lavadas com DPBS e a proteína eluída com tampão citrato de sódio 100 mM, pH 3,0. O pH das frações eluídas foi ajustado pela adição de HEPES 1M a 10% (v / v) pH 8 para produzir um pH final de 6-7. As amostras foram trocadas por tampão em PBS e filtradas assepticamente. A proteína foi quantificada com base na absorbância a 280 nm (A280 nm) (nos casos em que a precipitação estava presente após a neutralização da amostra, essas amostras foram centrifugadas brevemente antes das medições de A280 nm). Os níveis de endotoxina foram determinados usando o sistema Endosafe® Portable (Charles River, Wilmington, MA). As amostras com endotoxina acima de 0,2 EU / mg foram submetidas à remoção da endotoxina com as colunas NoEndo™ Spin (Viva Products Inc., Littleton, MA). A variante quimera parental coelho-anticorpo humano 8K22 foi posteriormente purificada por cromatografia SEC preparatória (Superdex 200 26/60) em fase móvel DPBS após purificação de proteína A.

[00479] Após a purificação, a pureza das amostras foi avaliada por ensaio High Throughput Protein Express não redutor e redutor usando Caliper LabChip® GXII (Perkin Elmer, Waltham, MA). Os procedimentos foram realizados de acordo com o HT Protein Express LabChip® User Guide versão 2 com as seguintes modificações. Amostras de anticorpos, em 2µl ou 5µl (faixa de concentração 5-2000 ng/µl), foram adicionadas a poços separados em placas de 96 poços (BioRad, Hercules, CA) junto com 7µl de Tampão de amostra HT Protein Express (Perkin Elmer # 760328). As amostras de anticorpos foram então desnaturadas a 70°C por 15 min. O instrumento LabChip® foi operado usando o chip HT Protein Express (Perkin Elmer, Waltham, MA) e a configuração de ensaio Ab-200.

Resultados

[00480] O rendimento pós-purificação da proteína A nas vinte e cinco variantes do anticorpo 8K22 humanizado variou de ~ 10-30 mg (ou ~ 25-75 mg/L). A Figura 30B e 30D mostram o resultado Caliper para o anticorpo quimérico parental v23820 e uma variante humanizada representativa, v23807. Como mostrado na Figura 30D, em uma

amostra representativa de anticorpo humanizado, Caliper não redutor (NR) e redutor (R) refletiu uma única espécie correspondente ao anticorpo de tamanho total e cadeias pesadas e leves intactas, que era o caso com todas as variantes humanizadas. Pequenos níveis de precipitação foram observados após a neutralização da amostra após eluição da proteína A, para as seguintes variantes: 23804, 23805, 23807, 23808, 23814, 23816, 23817, 23818, incluindo a quimera parental, v23820. A comparação com amostras de proteínas de títulos semelhantes que não resultaram em qualquer precipitação, sugeriu que os níveis de precipitação observados foram relativamente desprezíveis, uma vez que os rendimentos resultantes para esses dois tipos de amostras foram comparáveis. Algumas das amostras de anticorpos 8K22 humanizados exigiram a remoção da endotoxina após a purificação da proteína A. A remoção da endotoxina foi realizada para duas das vinte e cinco amostras de anticorpos 8K22 humanizados e resultou na redução bem-sucedida dos níveis de endotoxina para as especificações necessárias.

EXEMPLO 26: Avaliação da qualidade de anticorpos 8K22 humanizados purificados

[00481] Amostras de variantes de anticorpos 8K22 humanizados foram submetidas a UPLC-SEC a fim de avaliar a homogeneidade das espécies após purificação de proteína A ou após purificação preparatória de SEC no caso do anticorpo quimera parental, v23820.

[00482] UPLC-SEC foi realizado usando uma coluna Waters Acquity BEH200 SEC (2,5 mL, 4,6 x 150 mm, aço inoxidável, partículas de 1,7 μm) (Waters LTD, Mississauga, ON) ajustada para 30°C e montada em um sistema Waters Acquity UPLC H-Class Bio com um detector de arranjo de fotodiodo (PDA). Os tempos de execução consistiram em 7 min e um volume total por injeção de 2,8 mL com um tampão de execução de DPBS com 0,02% de Tween 20 pH 7,4 a 0,4 ml / min. A eluição foi monitorada por absorbância de UV na faixa de 210-500 nm, e os cromatogramas foram extraídos a 280 nm. A integração de pico foi realizada usando software Waters Empower 3.

Resultados

[00483] Como mostrado nas Figuras 30A (para a quimera parental v23820) e 30C (para um anticorpo humanizado representativo), o perfil UPLC-SEC para a amostra de anticorpo humanizado representativa refletiu uma homogeneidade de espécies elevada,

comparável à amostra de anticorpo quimera parental purificada. A quimera parental continha espécies de maior peso molecular após purificação de proteína A (não mostrada), que foram removidas por SEC preparatória. O resto das amostras de anticorpos 8K22 humanizados tinham perfis semelhantes aos da amostra de anticorpos humanizados representativos.

EXEMPLO 27: Avaliação de afinidade de anticorpos 8K22 humanizados para hFRα

[00484] Para determinar se o processo de humanização afetou a afinidade das variantes humanizadas para o seu alvo, a capacidade das variantes do anticorpo 8K22 humanizado de se ligar ao antígeno hFRα foi avaliada por interferometria de Biocamada (BLI).

[00485] O material sobrenadante pós-colheita foi rastreado quanto à ligação ao hFRα, seguido pela repetição do ensaio de ligação nas amostras de anticorpos purificados para variantes selecionadas.

[00486] A ligação ao antígeno foi avaliada usando o sistema Octet RED96, percorrendo as seguintes etapas: carregamento de anticorpos (0,9 μg / mL) em biossensores AHC ao longo de 200s; estabilização da linha de base por 60s; associação a FRα humana marcada com His recombinante (Acrobiosystem) em múltiplas concentrações relevantes abrangendo o KD esperado para 500s; a dissociação foi registrada por 1200 s; e a regeneração foi realizada ciclando 3 vezes entre glicina 10 mM pH 1,5 (15 s) e o tampão de ensaio (15 s) antes de prosseguir para o próximo anticorpo. O tampão de ensaio usado foi tampão KB (tampão cinético, composto de PBS pH 7,4, BSA 0,1%, Tween 20 0,02%, azida de sódio 0,05%) suplementado com Tween 20 0,06%. O experimento foi conduzido a 25ºC com uma velocidade de agitação de 1000 rpm.

[00487] A análise dos dados foi realizada por meio do 'Software de análise de dados 9.0' (ForteBio). As curvas de ligação subtraídas de referência foram globalmente ajustadas ao modelo de interação 1:1 para gerar os parâmetros cinéticos de ligação k_{on}, k_{off}, e a constante de dissociação KD.

Resultados

[00488] Os resultados são mostrados na Tabela 21 e Figura 31. A Figura 31A mostra os sensorgramas BLI para o anticorpo quimérico parental v23820 e dois anticorpos humanizados representativos, v23801 e v23807 usando sobrenadantes. A Figura 31B mostra

os sensorgramas BLI para o anticorpo quimérico parental v23820 e dois anticorpos humanizados representativos, v23801 e v23807 usando anticorpos purificados. A triagem de sobrenadantes de anticorpos para ligação a hFRα distinguiu um grupo superior (Grupo A) de variantes de anticorpos 8K22 humanizados (variantes 23798, 23804, 23806, 23807, 23809, 23814, 23816 e 23817) com pequena redução na afinidade, dentro de ~ 2 vezes, em comparação com a do anticorpo quimérico parental. Os valores de KD obtidos variaram de ~ 14 nM a 9,3 nM, com KD do anticorpo quimérico parental (variante 23820) determinado como sendo 5,9 nM. A maioria das variantes do anticorpo 8K22 humanizado foi caracterizada por uma afinidade reduzida superior a 2 e até 4 vezes em comparação com a do mAb quimera parental; estes são referidos como variantes do Grupo B. As variantes 23795, 23800, 23810, 23803 e 23813 exibiram uma diminuição adicional na afinidade, ~ 5-6 vezes em comparação com o mAb quimera parental; essas variantes são chamadas de variantes do Grupo C. As diferenças em determinados valores de KD entre variantes de anticorpos 8K22 humanizados resultaram principalmente de diferenças nos valores K_{off}.

[00489] O ensaio de ligação BLI em amostras de anticorpos purificados foi consequentemente realizado para as variantes que exibiram uma redução de até ~ 4 vezes na afinidade, conforme determinado no ensaio realizado no material sobrenadante. Os valores absolutos de KD obtidos neste ensaio, realizado no material purificado, foram sistematicamente inferiores aos obtidos no ensaio realizado no material sobrenadante, devido aos maiores valores K_{on} (os valores K_{off} foram amplamente comparáveis aos obtidos no ensaio realizado no material sobrenadante), no entanto, a classificação relativa das variantes humanizadas 8K22 foi muito semelhante. As diferenças na colocação dentro dos Grupos A, B e C foram observadas para as variantes 23809 e 23816 (do Grupo A para o Grupo B), bem como para as variantes 23794 e 23818 (do Grupo B para o Grupo A).

[00490] As variantes 23804, 23806, 23807, 23814 e 23817 emergiram como as variantes de desempenho de camada superior, no que diz respeito à retenção da afinidade para hFRα em 2 vezes após a humanização, conforme determinado por ambos os ensaios de ligação, realizados no sobrenadante e no material de amostra purificado. Estas variantes têm cadeias leves humanizadas L3 ou L5 em comum, que diferem do resto das três cadeias leves humanizadas pela presença de duas substituições de aminoácidos para resíduos de coelho na alça FR. Os dados obtidos nestes ensaios de ligação sugerem que estes dois resíduos de aminoácidos particulares são importantes para reter a afinidade de ligação ao antígeno

parental semelhante à quimera em variantes humanizadas. Os determinantes secundários das variantes de anticorpos de camada superior que surgiram são a presença de cadeias pesadas humanizadas H1 ou H4.

EXEMPLO 28: Avaliação da estabilidade térmica de anticorpos 8K22 humanizados

[00491] A estabilidade térmica das variantes do anticorpo 8K22 humanizado foi avaliada por calorimetria de varredura diferencial (DSC) conforme descrito abaixo.

[00492] 400 μL de amostras purificadas principalmente em concentrações de 0,4 mg / mL em PBS foram usados para análise DSC com um DSC VP-Capilar (GE Healthcare, Chicago, IL). No início de cada execução de DSC, 5 injeções em branco de tampão foram realizadas para estabilizar a linha de base e uma injeção de tampão foi colocada antes de cada injeção de amostra para referência. Cada amostra foi varrida de 20 a 100°C a uma taxa de 60°C/h, com baixo feedback, filtro de 8 segundos, termostato de pré-varredura de 3 min e pressão de nitrogênio de 70 psi. Os termogramas resultantes foram referenciados e analisados usando o software Origin 7 (OriginLab Corporation, Northampton, MA) para determinar a temperatura de fusão (Tm) como um indicador de estabilidade térmica.

Resultados

[00493] Os valores de Fab Tm foram determinados para as variantes do anticorpo 8K22 humanizado que exibiram redução inferior a ~ 5-6 vezes na afinidade do antígeno em comparação com o anticorpo quimera parental. Os valores de Fab Tm determinados para as variantes humanizadas caracterizadas foram comparáveis ou até 10ºC maiores do que aqueles do anticorpo quimérico parental, variando de ~70ºC a ~81,0ºC (Tabela 22). Como pode ser visto na Tabela 22 e Figura 32 (termogramas de variantes representativas), além dos perfis de transição única comumente observados (Figura 32A), variantes de anticorpo 8K22 humanizado (variantes 23796, 23798, 23801 e 23818) exibiram perfis de transição de dois estados (Figura 32B) e alguns exibiram perfis de transição de dois estados fracamente pronunciados (variantes 23802, 23814, 23815, 23816, 23817) (Figura 32B). Embora tais perfis não sejam geralmente característicos de Fabs kappa, eles são às vezes observados e provavelmente refletem a fusão não cooperativa do domínio Fab, isto é, domínios constantes e variáveis se desdobrando separadamente.

[00494] Variantes humanizadas com os valores de Fab Tm mais baixos determinados têm em comum a presença de duas substituições de aminoácidos para resíduos de coelho na alça FR da cadeia leve humanizada, enquanto as variantes com os valores de Tm mais altos têm em comum a substituição reversa de aminoácidos para resíduo de coelho em uma posição no domínio variável da cadeia leve humanizada que está em contato com o domínio constante dessa cadeia. Nenhuma tendência particular foi identificada em termos da composição particular da cadeia pesada e leve das variantes que poderia explicar as diferenças nos perfis de transição (único ou dois estados) observados entre algumas das variantes.

EXEMPLO 29: Avaliação de pureza de anticorpos 8K22 humanizados

[00495] A pureza aparente das variantes do anticorpo foi avaliada usando espectrometria de massa após purificação da proteína A (Exemplo 25) e desglicosilação não desnaturante.

[00496] Como as amostras de variante de anticorpo continham glicanos ligados a Fc N apenas, as amostras foram tratadas com apenas uma enzima, N-glicosidase F (PNGase-F). As amostras purificadas foram desglicosiladas com PNGaseF da seguinte forma: 0,1U PNGaseF / μg de anticorpo em Tris-HCl 50 mM pH 7,0, incubação durante a noite 37°C, concentração final de proteína de 0,48 mg / mL. Após desglicosilação, as amostras foram armazenadas 4°C antes da análise por LC-MS.

[00497] As amostras de proteínas desglicosiladas foram analisadas por LC-MS intacta usando um sistema Agilent 1100 HPLC acoplado a um espectrômetro de massa LTQ-Orbitrap™ XL (ThermoFisher, Waltham, MA) (ajustado para detecção ideal de proteínas maiores (> 50kDa)) por meio de um íon de fonte máxima de eletropulverização. As amostras foram injetadas em uma coluna de fase reversa Poros R2 de 2,1 x 30 mm (Applied Biosystems) e resolvidas usando um gradiente linear de ácido fórmico aq / acetonitrila (desgaseificado) 0,1% consistindo em concentração crescente (20-90%) de acetonitrila. A coluna foi aquecida a 82,5°C e os solventes foram aquecidos na pré-coluna a 80°C para melhorar a forma do pico da proteína. A voltagem do cone (configuração de fragmentação da fonte) foi de aproximadamente 40 V, o ajuste de resolução FT foi de 7.500 e a faixa de varredura foi de m / z 400-4.000. O sistema LC-MS foi avaliado para análise de amostra de IgG usando um padrão de IgG desglicosilado (padrão Waters IgG), bem como

uma mistura de padrão de mAb desglicosilado (25:75 mAb metade:tamanho completo). Para cada análise de LC-MS, os espectros de massa adquiridos através do pico do anticorpo (normalmente 3,6-4,3 minutos) foram somados e todo o envelope de íons com carga múltipla (m / z 1.400-4.000) foi deconvoluído em um perfil de peso molecular usando o módulo MaxEnt 1 de MassLynx, o software de controle de instrumentos e análise de dados (Waters, Milford, MA). A quantidade aparente de cada espécie de anticorpo em cada amostra foi determinada a partir de alturas de pico nos perfis de peso molecular resultantes.

Resultados

[00498] Todas as variantes de anticorpo 8K22 humanizado caracterizadas eram de 100% de pureza de espécie, exemplificado pelo perfil LC/MS das duas amostras representativas de anticorpo humanizado na Figura 33. A Figura 33A representa o perfil LC/MS para v23801, enquanto a Figura 33B representa o perfil LC/MS para v23807. Nos perfis LC/MS de todas as amostras, um pico em ~ + 422Da estava presente. Este pico também foi observado na execução da amostra padrão, sugerindo que pode ser um contaminante do sistema e não um contaminante da amostra.

EXEMPLO 30: Conversão de Fab 8K22 em scFv

[00499] As sequências VH e VL do anticorpo anti-receptor de folato humano humanizado alfa (anti-hFRα) 8K22 variante 23807 (H4L3), descrito nos Exemplos 24 e 25, foram convertidas do formato Fab para o formato scFv conforme descrito abaixo. Isso foi feito para facilitar a produção de anticorpos biespecíficos anti-4-1BB x anti-FRα no formato 2 x 1 descrito no Exemplo 1 e na Figura 2B.

Projeto de 8K22 scFvs

[00500] Uma série de 8K22 scFvs foi projetada em que a ordem dos domínios VH e VL foi variada, o comprimento do ligante entre os dois domínios foi variado ou o efeito de incluir uma ponte dissulfeto de estabilização foi avaliado. Os scFvs 8K22 foram preparados e testados em formato de anticorpo de um braço, conforme descrito no Exemplo 1 e Figura 1C. Para a maioria dos projetos, os 8K22 scFvs foram fundidos ao terminal C do Fc, mas em alguns casos os 8K22 scFvs foram fundidos ao terminal N do Fc. Um resumo dos scFvs 8K22 projetados é encontrado na Tabela 23. As sequências para a porção de 8K22 scFv de cada variante são encontradas na Tabela 27 no Exemplo 32.

Tabela 23: conversão de scFv

Variante de anticorpo	**Descrição**	**Orientação**	**Ligante**	**Dissulfeto**	**Fusão Fc**
v29675	Fab parental N-termo	Fab parental			N-
v29686	Fab parental de termo C	Fab de termo C			C-
v29676	termo N VL-(curto)-VH	VL-VH	$(G_4S)_3$		N-
v29677	termo-N VL-(longo)-VH	VL-VH	$(G_4S)_4$		N-
v29678	termo C VL-(curto)-VH	VL-VH	$(G_4S)_3$		C-
v29679	C-termo VH-(curto)-VL	VH-VL	$(G_4S)_3$		C-
v29680	termo-C VL-(longo)-VH	VL-VH	$(G_4S)_4$		C-
v29681	termo C VH-(longo)-VL	VH-VL	$(G_4S)_4$		C-
v29682	C-termo VL- (curto) -VH + dissulfeto	VL-VH	$(G_4S)_3$	Sim	C-
v29683	termo C VH-(curto)-VL + dissulfeto	VH-VL	$(G_4S)_3$	Sim	C-
v29684	termo-C VL-(longo)-VH + dissulfeto	VL-VH	$(G_4S)_4$	Sim	C-
v29685	termo C VH-(longo)-VL + dissulfeto	VH-VL	$(G_4S)_4$	Sim	C-

[00501] Em mais detalhes, os domínios 8K22 humanizados leves variáveis (VL) e variáveis pesadas (VH) foram convertidos em um scFv como segue: As sequências de aminoácidos VL (SEQ ID NO: 316) e VH (SEQ ID NO: 310) foram geradas de acordo às definições de Kabat. As sequências VL e VH foram combinadas como uma sequência única separada por uma sequência ligante curta. A sequência do ligante era $(G_4S)_3$ (curta, GGGGSGGGGSGGGGS, SEQ ID NO:320) ou $(G_4S)_4$ (longa, GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS, SEQ ID NO:321). A ordem dos domínios era VL-ligante-VH ou VH-ligante-VL (consulte a coluna "Orientação" na Tabela 23), onde VL-VH indica que a sequência VL precede a sequência VH e está conectada por um ligante curto. VH-VL indica que a sequência VH precede a sequência VL e está conectada por um ligante curto. Um dissulfeto de estabilização entre a VL e VH foi introduzido em algumas variantes

na posição VL - G100C e VH - G44C de acordo com o sistema de numeração de Kabat. Isso é denotado na Tabela 23 na coluna dissulfeto com Sim. Os projetos de scFv usados são descritos na tabela 23. Por exemplo, v29683-termo C VH-(curto)-VL + dissulfeto é fundido ao C-terminal do Fc pelo domínio VH, seguido por um ligante $(G_4S)_3$ e domínio VL. Os domínios VH e VL contêm uma ligação dissulfeto em VL - G100C e VH - G44C. As variantes foram construídas em um formato de um braço gerado usando o projeto Fc heterodimérico descrito no Exemplo 17.

[00502] Cada uma das sequências de scFv 8K22 descritas na Tabela 23 foram fundidas a uma sequência Fc possuindo as mutações Het FcA, como descrito no Exemplo 17, no terminal N ou terminal C. Se fundido ao terminal N de Het FcA, um ligante Ala-Ala curto foi incluído entre o scFv e a dobradiça de Het FcA. Se fundido ao terminal C do Het FcA, um ligante curto Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 336) foi incluído entre o Het FcA e o scFv. Em todos os construtos, a cisteína localizada na dobradiça superior na posição Kabat: 233 foi mutada para SER. Essas sequências foram traduzidas de forma reversa para DNA, otimizadas por códon para expressão em mamíferos e sintetizadas por gene.

[00503] Todas as sequências parentais (8K22 humanizado) e as sequências convertidas de scFv foram precedidas pela sequência de peptídeo sinal artificialmente projetada MRPTWAWWLFLVLLLALWAPARG [SEQ ID NO: 1] (ref: Barash S et al., Biochem and Biophys Res. Comm. 2002; 294, 835–842). Para todas as cadeias parentais e convertidas de scFv, os insertos de vetor foram preparadas como descrito no Exemplo 1 e clonadas no vetor de expressão pTT5.

EXEMPLO 31: Produção de variantes de scFv 8K22 fundido com Fc

[00504] As variantes descritas no Exemplo 30 foram preparadas em condições de expressão transitória em mamíferos e subsequentemente purificadas e caracterizadas quanto à estabilidade e ligação ao antígeno. As amostras de variantes de scFv 8K22 fundidas com Fc após a proteína-A foram submetidas a UPLC-SEC para avaliar a quantidade de espécies de alto peso molecular. Além disso, a estabilidade térmica de 8K22 scFv em variantes de 8K22 scFv fundidos com Fc foi avaliada por calorimetria de varredura diferencial (DSC), conforme descrito abaixo. Isso foi realizado para identificar o projeto ideal para um scFv 8K22.

Método

[00505] As duas cadeias pesadas diferentes em variantes de scFv fundido com Fc e cadeias pesadas e leves em variantes de anticorpo contendo Fab (29675 e 29686) foram coexpressas em culturas CHO de 200 mL e purificadas conforme descrito no Exemplo 1. Após a purificação da proteína A, a pureza das amostras foi avaliada por ensaio de High Throughput Protein Express não redutor e redutor (LabChip) conforme descrito no Exemplo 1.

[00506] Após a purificação da proteína A, as amostras foram trocadas por tampão em DPBS (Dulbecco's PBS) e filtradas assepticamente ou, dependendo de sua homogeneidade avaliada por UPLC-SEC, submetidas à purificação SEC, conforme descrito no Exemplo 1. UPLC-SEC foi realizado conforme descrito no Exemplo 1.

[00507] As amostras purificadas finais foram analisadas com DSC para determinar sua estabilidade térmica. Os experimentos de DSC foram realizados conforme descrito no Exemplo 14.

Resultados

[00508] Os rendimentos da variante pós-proteína-A estavam na faixa de 85 - 109 mg / L para as variantes de scFv 8K22 fundidas com Fc. LabChip pós-proteína A não redutora e redutora refletiu uma espécie predominante com o peso molecular desejado.

[00509] Como pode ser visto na Tabela 24, os perfis UPLC-SEC mostraram uma variedade de homogeneidade nas diferentes variantes. Algumas variantes continham espécies de alto peso molecular (HWM) (ou seja, dímeros, trímeros, agregados de ordem superior) de até 56%, v29676. As variantes com um ligante $(G_4S)_4$ (v29677, v29680 e v29681) tiveram as espécies HMW medidas mais baixas, 21-34%. Com v29680 tendo as espécies HMW medidas mais baixas a 21,8%, todas as amostras tiveram as espécies HMW removidas com SEC preparativa.

Tabela 24: Espécies de alto peso molecular em amostras de 8K22 scFv fundidas com Fc

Variante de anticorpo	**Descrição**	**Rendimento pós-proteína A (mg / L)**	**Espécies HWM Pós-proteína A**

v29675	Fab parental N-termo	100,3	10,1%
v29676	termo N VL-(curto)-VH	86	56,5%
v29677	termo-N VL-(longo)-VH	85,3	34,4%
v29678	termo C VL-(curto)-VH	102,4	55,4%
v29679	C-termo VH-(curto)-VL	108,3	43,6%
v29680	termo-C VL-(longo)-VH	100,7	21,8%
v29681	termo C VH-(longo)-VL	105,8	27,5%
v29682	C-termo VL- (curto) -VH + dissulfeto	98,4	48,5%
v29683	termo C VH-(curto)-VL + dissulfeto	103,3	48,6%
v29684	termo-C VL-(longo)-VH + dissulfeto	107,4	40,2%
v29685	termo C VH-(longo)-VL + dissulfeto	96,8	43,9%

[00510] A Figura 34 mostra os termogramas DSC dos anticorpos 8K22 scFv fundidos com Fc testados. Os valores de Tm, correspondentes à porção scFv do Ab, determinados a partir dos termogramas são mostrados na Tabela 25 abaixo.

Tabela 25: Estabilidade térmica de 8K22 scFv em variantes Fc fundidas

Variante de anticorpo	**Descrição**	**Tm (°C)**
v29675	Fab parental N-termo	71,5
v29686	Fab parental de termo C	74,7
v29676	termo N VL-(curto)-VH	54,8
v29677	termo-N VL-(longo)-VH	57,0
v29678	termo C VL-(curto)-VH	53,5
v29679	C-termo VH-(curto)-VL	50,3
v29680	termo-C VL-(longo)-VH	56,4
v29681	termo C VH-(longo)-VL	52,9
v29682	C-termo VL-(curto)-VH +	58,4

	dissulfeto	
v29683	C-termo VH-(curto)-VL + dissulfeto	60,4
v29684	C-termo VL-(longo)-VH + dissulfeto	60,0
v29685	C-termo VH-(longo)-VL + dissulfeto	59,3

[00511] Cada pico no termograma corresponde a uma transição térmica. Existem três transições térmicas esperadas: Fab/scFv, CH2 (~71°C) e CH3 (~80°C). A transição do Fab reflete a fusão cooperativa dos domínios VH-VL e CH1-CL. A transição esperada do scFv corresponderia à fusão dos domínios VH-VL. Alguns scFvs não sofrem fusão cooperativa e duas transições foram observadas. Nestes casos, o Tm inferior é relatado na Tabela 25. A transição do Fab 8K22 se sobrepõe à transição do domínio CH2 e, portanto, apenas 2 picos de transição são observados no termograma para as variantes do anticorpo Fab parental 8K22. Como pode ser visto na Figura 34, três transições distintas podem ser observadas para todas as variantes que contêm um scFv 8K22. A Tm do scFv 8K22 foi 10-15°C mais baixa do que o anticorpo Fab parental. A ligação dissulfeto projetada aumenta a Tm do scFv entre 1-6,5°C. Dos scFvs com uma ligação dissulfeto, o scFv de v29683 e v29684 teve a estabilidade térmica mais alta. Dos scFvs sem uma ligação dissulfeto, o scFv de v29679 teve a maior estabilidade térmica.

EXEMPLO 32: Ligação de anticorpos 8K22 scFv fundidos com Fc a FRα humano por interferometria de biocamada

[00512] Para avaliar a capacidade dos anticorpos 8K22 scFv fundidos com Fc para reter a ligação do tipo Fab a FRα humana, a afinidade dos anticorpos convertidos scFv descritos no Exemplo 31 foi comparada com os anticorpos quiméricos parentais descritos nos Exemplos 24 e 25 por interferometria de biocamada (BLI).

[00513] O material de proteína pós SEC descrito no Exemplo 31 foi avaliado quanto à ligação a FRα humana. A ligação foi medida por interferometria de biocamada (BLI) usando o Octet RED 96 (FortéBio) conforme descrito no Exemplo 27. Todos os parâmetros permaneceram os mesmos, exceto para a fase de dissociação que foi registrada

por 1500s.

Resultados

Os KDs medidos para cada variante de scFv 8K22 fundido com Fc são fornecidos na Tabela 26.

Tabela 26: Ligação de variantes de scFv 8K22 fundido com Fc a hFRα

Variante de anticorpo	**Descrição**	**Resultados de ligação (n = 2)**	
		KD(M)	**STDev KD (M)**
v29675	Fab parental N-termo	4,1E-9	8E-11
v29676	termo N VL-(curto)-VH	3,9E-9	9E-11
v29677	termo-N VL-(longo)-VH	5,0E-9	1E-10
v29678	termo C VL-(curto)-VH	5,1E-9	1E-10
v29679	C-termo VH-(curto)-VL	3,9E-10	5E-11
v29680	termo-C VL-(longo)-VH	1,8E-9	7E-11
v29681	termo C VH-(longo)-VL	2,6E-9	7E-11
v29682	C-termo VL-(curto)-VH + dissulfeto	2,1E-9	8E-11
v29683	C-termo VH-(curto)-VL + dissulfeto	1,1E-9	5E-11
v29684	C-termo VL-(longo)-VH + dissulfeto	8,8E-10	1E-10
v29685	C-termo VH-(longo)-VL + dissulfeto	4,2E-9	4E-10

[00514] Como pode ser visto na Tabela 26, o ensaio de ligação de BLI realizado nas variantes de scFv 8K22 fundido com Fc revelou que todas as variantes de scFv se ligaram a hFRα com uma afinidade que estava dentro de 2 vezes do anticorpo Fab Parental. A Figura 35 fornece sensorgramas BLI para o anticorpo Fab Parental (Figura 35A) e duas variantes de scFv fundidas com Fc representativas (Figura 35B e 35C) que foram capazes de se ligar a FRα humano. Estes resultados sugerem que a conversão para o formato scFv e adição da ligação dissulfeto não impactou a ligação ao antígeno e que a localização

do scFv, termo N ou termo C, também não teve efeito na ligação.

Tabela 27: sequências de aminoácidos de 8K22 scFv de variantes

SEQ ID NO:	**Variante**	**Sequência 8K22 scFv**
334	v29676, v29678	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSSLAWYQQKPGKA PKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSVQPEDFATYY CQGGWYSSAATYVPNTFGGGTKVEVKGGGGSGGGGSGGGG SEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNNYYMCWVRQA PGKGLEWIACIYGGISGRTYYADSAKGRFTISKDSSNTVYLQM NSLRAEDTAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVTVSS
335	v29677, v29680	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSSLAWYQQKPGKA PKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSVQPEDFATYY CQGGWYSSAATYVPNTFGGGTKVEVKGGSGGGSGGGSGGGS GGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNNYYMCW VRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTYYADSAKGRFTISKDSSNTV YLQMNSLRAEDTAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVTVSS
337	v29679	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNNYYMCWVRQAP GKGLEWIACIYGGISGRTYYADSAKGRFTISKDSSNTVYLQMN SLRAEDTAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSSLAWY QQKPGKAPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSVQP EDFATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGGGTKVEVK
339	v29681	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNNYYMCWVRQAP GKGLEWIACIYGGISGRTYYADSAKGRFTISKDSSNTVYLQMN SLRAEDTAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVTVSSGGSGGGSG GGSGGGSGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSS LAWYQQKPGKAPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTDFTLTI SSVQPEDFATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGGGTKVEVK
340	v29682	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSSLAWYQQKPGKA PKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSVQPEDFATYY

		CQGGWYSSAATYVPNTFGCGTKVEVKGGGGSGGGGSGGGG SEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNNYYMCWVRQA PGKCLEWIACIYGGISGRTYYADSAKGRFTISKDSSNTVYLQM NSLRAEDTAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVTVSS
341	v29683	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNNYYMCWVRQAP GKCLEWIACIYGGISGRTYYADSAKGRFTISKDSSNTVYLQMN SLRAEDTAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSSLAWY QQKPGKAPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSVQP EDFATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGCGTKVEVK
342	v29684	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSSLAWYQQKPGKA PKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSVQPEDFATYY CQGGWYSSAATYVPNTFGCGTKVEVKGGSGGGSGGGSGGGS GGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNNYYMCW VRQAPGKCLEWIACIYGGISGRTYYADSAKGRFTISKDSSNTV YLQMNSLRAEDTAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVTVSS
343	v29685	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNNYYMCWVRQAP GKCLEWIACIYGGISGRTYYADSAKGRFTISKDSSNTVYLQMN SLRAEDTAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVTVSSGGSGGGSG GGSGGGSGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSS LAWYQQKPGKAPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTDFTLTI SSVQPEDFATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGCGTKVEVK

EXEMPLO 33: Geração de anticorpos biespecíficos 4-1BBxFRα utilizando parátopos humanizados

[00515] Construtos de anticorpo 4-1BB x FRα adicionais (anticorpos) v31330, v31331, v31332, v31333, v31334 e v31335 foram projetados para avaliar o efeito do formato na capacidade desses construtos biespecíficos 4-1BB x FRα para ativar condicionalmente 4-1BB. A Figura 36 fornece uma representação dos formatos dos anticorpos testados neste exemplo. Estes construtos de anticorpo 4-1BB x FRα foram preparados usando o parátopo 1G1 anti-4-1BB humanizado correspondente à variante 28684

(H1L2), descrito no Exemplo 10, e o parátopo humanizado anti-FRα 8K22 com base na variante 23807 (H4L3) convertido em um scFv, descrito no Exemplo 30. A Tabela X1 identifica os clones que constituem cada um dos construtos de anticorpos. As sequências polipeptídicas de cada clone podem ser encontradas na Tabela Y1.

[00516] Os anticorpos foram expressos e purificados conforme descrito no Exemplo 1. Os anticorpos purificados foram então testados conforme descrito nos exemplos subsequentes.

EXEMPLO 34: Atividade de biespecíficos de 4-1BB x FRα humanizados em uma célula T primária: ensaio de cocultura de tumor

[00517] Os anticorpos descritos no exemplo anterior foram testados em uma célula T primária: ensaio de cocultura de tumor para avaliar sua capacidade de ativar 4-1BB, de acordo com métodos previamente descritos no Exemplo 22. Resumidamente, as células T CD8+ foram colocadas em poços de uma placa de 384 poços com células tumorais IGROV1 e células aAPC / CHO-K1 e amostras de anticorpos.

[00518] Após quatro dias, os sobrenadantes foram retirados e a concentração de IFNγ medida por kit de ensaio de 384 poços MesoScale Discovery (MSD) U-Plex IFNγ (Meso Scale Diagnostics, Rockville, MD). Antes do uso, as placas MSD foram bloqueadas adicionando 50 µl de Diluent 100 (Meso Scale Diagnostics, Rockville, MD) a poços de uma placa MA6000 384 poços SA por 30 minutos em temperatura ambiente. A solução de bloqueio foi então removida e 10µl de anticorpo de captura adicionado a cada poço (228µl de anticorpo de captura de IFNγ biotilado diluído em 3,77 ml de Diluente 100). A placa foi deixada a 4°C durante a noite e depois lavada tr| s vezes com PBS 0,05% Tween-20.

[00519] Amostras de sobrenadante de cultura de tecido foram diluídas 1:20 com Diluente 43 (Meso Scale Diagnostics) e 5 µL do sobrenadante diluído foram colocados em poços contendo 5 µL de Diluente 43. A placa foi deixada à temperatura ambiente durante uma hora para permitir a ligação, depois lavada três vezes com PBS 0,05% Tween-20. O anticorpo de detecção SULFO-TAG IFNγ (MesoScale Diagnostics) foi diluído 100X no Diluente 3 e 10 µl da solução resultante foram adicionados a cada poço, e a placa incubada por mais uma hora. A placa foi então lavada três vezes em PBS 0,05% Tween-20. 40 µl de tampão de leitura MSD GOLD foram adicionados a cada poço e a placa lida em um instrumento MesoSector R600 (MesoScale Diagonistics). A quantidade de IFNγ em cada

amostra foi calculada de acordo com uma curva padrão gerada a partir de IFNγ recombinante (Sistema R&D).

Resultados

[00520] Como pode ser visto na Figura 37, os anticorpos biespecíficos 4-1BB x FRα mostraram indução de IFNγ em cocultura com células IGROV1. As amostras v31332, v31362 e v31330 que têm dois domínios de ligação 4-1BB mostraram a maior potência e a mais alta atividade, conforme mostrado pela produção total de IFNγ. v31332, v31362 e v31330 também mostraram atividade mais alta do que v30335, um anticorpo monoespecífico 4-1BB que não depende da reticulação mediada por Fc. As amostras com apenas um único braço de ligação de 4-1BB (v31333, v31334 e v31335) induziram a produção de IFNγ de maneira dependente da dose, mas a produção total de citocina foi menor do que a observada para amostras com dois braços de ligação de 4-1BB. v31331, apesar de ter dois domínios de ligação 4-1BB, mostrou atividade semelhante a anticorpos com um único domínio de ligação 4-1BB (v31333, v31334 e v31335), sugerindo que os domínios de ligação 4-1BB e FRα no mesmo braço de v31331 podem resultar em uma geometria que evita o engate de 4-1BB e FRα simultaneamente, reduzindo a atividade àquela vista com um único braço 4-1BB.

[00521] Dois anticorpos foram usados como anticorpos de controle para atividade não específica. v16952, que não se liga a proteínas de mamífero, e v31354, que contém os mesmos domínios de ligação 4-1BB e o mesmo formato que v31332, mas não se liga a FRα, não mostrou nenhuma atividade neste experimento, sugerindo que a produção de IFNg observada neste experimento foi devido à coestimulação 4-1BB e agrupamento do anticorpo 4-1BB via FRα.

EXEMPLO 35: Ativação de 4-1BB por anticorpos biespecíficos 4-1BB x FRα em cocultura com linhagens celulares de pulmão e ovário

[00522] Os anticorpos 4-1BB x FRα descritos no Exemplo 33 foram avaliados quanto à indução de sinalização de 4-1BB em cocultura com linhagens de células de câncer de pulmão e ovário. O ensaio foi realizado usando o ensaio do gene repórter NFκB descrito no Exemplo 3, mas com as linhagens de células tumorais descritas na Tabela 28 abaixo:

Tabela 28: Linhagens celulares de ovário e pulmão

Linhagem celular	Fonte	Tipo	Nível FRα
IGROV1	NCI	Adenocarcinoma endometrioide de ovário	$FR\alpha^{high}$
OVCAR3	ATCC	Adenocarcinoma seroso de ovário	$FR\alpha^{mid}$
OVKATE	JCRB	Adenocarcinoma seroso de ovário	$FR\alpha^{mid}$
NCI-H441	ATCC	Adenocarcinoma papilar de pulmão	$FR\alpha^{mid}$
NCI-H661	ATCC	Carcinoma de células grandes de pulmão	$FR\alpha^{low/neg}$
NCI-H1975	ATCC	Adenocarcinoma de pulmão	$FR\alpha^{high}$ e $FR\alpha^{low}$ (heterogêneo)
HCC827	ATCC	Adenocarcinoma de pulmão	$FR\alpha^{low}$
A431	ATCC	Carcinoma de células escamosas vulvar	$FR\alpha^{low}$

[00523] As linhagens celulares foram obtidas da ATCC (Manassas, Virginia, EUA), com exceção da OVKATE (Japanese Collection of Research Bioresources Cell Bank, Osaka, Japão) e IGROV1 (National Cancer Institute, Bethesda, Maryland, EUA). As células foram designadas como $FR\alpha^{high}$, $FR\alpha^{mid}$ e $FR\alpha^{low}$ com base na ligação de v17717 diretamente conjugada a Alexa647 por citometria de fluxo, conforme descrito no Exemplo 18.

Resultados

[00524] Semelhante a experimentos anteriores, células IGROV1 em cocultura com células T Jurkat com um sistema repórter 4-1BB NFκB mostraram ativação por anticorpos 4-1BB x FRα de uma maneira dependente da dose (Figura 38A). Os anticorpos 4-1BB x FRα com dois domínios de ligação 4-1BB (v31332, v31330 e v31362) mostraram maior atividade do que anticorpos tendo apenas um único domínio de ligação 4-1BB

(v31333, v31334 e v31335) (Figura 38A-H). A exceção foi v31331, que tem dois domínios de ligação 4-1BB, mas tinha atividade semelhante a v31333, v31334 e v31335. v31331 só pode ser capaz de envolver um único 4-1BB no Jurkat ao mesmo tempo que o FRα na célula tumoral, potencialmente devido à proximidade dos bolsos de ligação 4-1BB e FRα.

[00525] A atividade em linhagens celulares derivadas de pacientes com câncer de ovário ou de pulmão também foi testada. Estas linhagens celulares também expressaram diferentes níveis de FRα, permitindo o exame do efeito do nível de FRα na atividade. A atividade e potência máximas foram maiores quando os anticorpos estavam em cocultura com células $FR\alpha^{high}$ e correlacionados com os níveis de FRα na superfície das células tumorais (Figura 38A-H). No entanto, a atividade relativa nos anticorpos não mudou, com a maior potência e atividade observada a partir de v31332, v31330 e v31362 em comparação com os outros anticorpos. A atividade também foi observada em cocultura com linhagens de células de câncer de pulmão e ovário positivas para FRα de origem diversa. Em linhagens de células $FR\alpha^{low}$, a atividade pode ser observada, mas foi menor do que a observada com o anticorpo 4-1BB monoespecífico v30335.

EXEMPLO 36: Capacidade de parátopos anti-4-1BB selecionados para se ligarem a 4-1BB de macacos cynomolgus (cyno)

[00526] A capacidade de selecionar anticorpos humanizados para ligar 4-1BB cyno por SPR foi avaliada e comparada com aquela dos paraáopos de camundongo progenitores 1C8, 1G1 e 5G8. A reatividade cruzada Cyno destes anticorpos foi avaliada usando um ensaio de ligação celular homogêneo como descrito no Exemplo 9; neste experimento, a reatividade cruzada cyno foi avaliada usando SPR. O método SPR usado foi semelhante ao descrito no Exemplo 2, exceto que 4-1BB-His Cyno purificado com SEC (Acro Biosystems) foi usado no lugar do 4-1BB humano. Os anticorpos testados são descritos na Tabela 29 abaixo:

Tabela 29: Anticorpos testados

Variante	**Parátopo**	**Descrição**
20022	1C8	Sequências VH e VL de camundongo, Exemplo 6, Tabela 13
20023	1G1	
20036	5G8	

28727	1C8	Sequências VH e VL humanizadas, Exemplo 10, Tabela 14
28684	1G1	
28704	5G8	

Resultados

[00527] A ligação de 4-1BB cyno a v20023 e v28684 foi semelhante, sugerindo que o parátopo 1G1 ligou 4-1BB cyno antes e depois da humanização. O parátopo 1C8, semelhante ao observado com 4-1BB humano, perdeu alguma ligação após a humanização, como pode ser visto na diferença entre v20022 e v28727. Em contraste com a Figura 11A, onde v20036 pareceu se ligar a 4-1BB cyno, por SPR v20036 se liga fracamente a 4-1BB cyno. A discrepância entre a Figura 11A e os dados na Figura 39 é provavelmente devido à incapacidade do método usado na Figura 11A de discriminar entre anticorpos que se ligam bem e anticorpos que se ligam fracamente a 4-1BB cyno.

Tabelas 13-22

Tabela 13: Sequências de anticorpo anti-humano 4-1BB recuperadas

Variante	**Anticorpo**	**VH**	**VL**
20020	1B2	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSFWINWVKQRPGQGLEWIGNIYPDSSSTNYNEKFKNKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSDDSAVYFCARSLTFDYWGQGTTLTVSS [SEQ ID NO:3]	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSARGSGTDFSLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPYTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:4]
20021	1C3	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFISRLSISKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIYYCARENYDYDEFAYWGQGTLVTVSA [SEQ ID NO:5]	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSARGSGTDFSLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPYTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:6]
20022	1C8	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTTYAISWVRQPPGKGLEWLGIIWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSRSQVFLKMNSLQTDDTARYYCARGAGTWYFDVWGAGTTVTVSS [SEQ ID NO:7]	DIQMTQSTSSLSASVGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQQYSKFPWTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:8]
20023	1G1	EVQLVESGGGLVKPGGSRKLSCAASGFTFSEFGMHWVRQAPDKGLKWVAYISSGGSTIYYADTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCARDWVDYWGQGTTLTVSS [SEQ ID NO:9]	NIVMTQSPKSMSMSVGERVTLSCKASENVGSYVSWYQQKPEKSPKLLIYGASNRYTGVPDRFTGSGSATDFTLTISSVQAEDLADYHCGQSYSYPLTFGAGTKLELK [SEQ ID NO:10]
20024	2A7	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELS	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGTAVGWYQQKLGQSPKLLIYWASTRRTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDL

		SLTSEDSAVYYCARLGSRGTW FAYWGQGTLVTVSA [SEQ ID NO:11]	ADYFCQQYSSYPLTFGAGTKL ELK [SEQ ID NO:12]
20025	2E8	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITC TVSGFSLTSYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSGGSTDYNAAFIS RLSISKDNSKSQVFFKMNSLQA DDTAIYYCARNPLTATVMDYW GQGTSVTVSS [SEQ ID NO:13]	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVS VTCKASQNVGTNVAWYQQK PGQSRTVLIYSASYRHSGVPD RFTGSGSGTDFTLTISNVQSED LAEYFCQQYNSYPLTFGTGTK LELK [SEQ ID NO:14]
20026	2H9	QVQLQQPGAELVRPGASVKLS CKASGYPFTSYWMSWVKQRPE QGLEWIGRIDPYDSETHYNQKF KDKAILTVDKSSSTAYMQLSSL TSEDSAVYYCARTYYGNYDA MDYWGQGTSVTVSS [SEQ ID NO:15]	DIVMTQAAFSNPVTLGTSASIS CRSSKSLLHSYGITYLYWYLQ KPGQSPQLLIYQMSNLASGVP DRFSSSGSGTDFTLRISRVEAE DVGVYYCAQNLELPLTFGAG TKLELK [SEQ ID NO:16]
20027	3D7	QVQLQQPGAELVRPGASVKLS CKASGYTFTSYWINWVKQRPG QGLEWIGNIYPSDNYTNYNQK FKDKATLTVDKSSSTAYMQLS SPTSEDSAVYYCTRGGGIYYEN YFDYWGQGTTLTVSS [SEQ ID NO:17]	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTM TCSASSSVSYMHWYQQKSGT SPKRWVYDTSKLASGVPARF SGSGSGTSYSLTISSMEAEDV ATYYCQQWSSNPPTFGGGTK LEIK [SEQ ID NO:18]
20028	3H1	QVHLQQSGSELRIPGSSVKLSC KDFDSEVFPIAYMSWVRQKPG HGFEWIGDILPSIGRTIYGEKFE DKATLDADTVSNTAYLDLNSL TSEDSAIYYCSRGDYYYGSREY AMDYWGQGTSVTVSS [SEQ ID NO:19]	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASI SCRSSQSLVHSNGNTYLHWY LQKPGQSPKLLIYKVSNRFFG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDLGVYFCSQTTYVPLTFGA GTKLELK [SEQ ID NO:20]
20029	3E7	QVQLQESGGGLVKPGGSRKLS CAASGFTFSEFGMHWVRQAPD	NIVMTQSPKSMSMSVGERVT LSCKASENVGSYVSWYQQKP

		KGLEWVAYISSGSSTIYYADTV KGRFTISRDNAKNTLFLQMTSL RSEDTAMYYCARDWVDYWG QGTALTVSS [SEQ ID NO:21]	EKSPKLLIYGASNRYTGVPDR FTGSGSATDFTLTISSVQAEDL ADYHCGQSYSYPLTFGAGTK LELK [SEQ ID NO:10]
20030	3G4	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITC TVSGFSLTSYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSGGSTDYNGAFIS RLSISKDNSKSQVFFKMNSLQA DDTAMYFCARDRGGGFDYWG QGTTLTVSS [SEQ ID NO:23]	DIVMTQSPSSLAVTAGEKVT MRCKSSQSLLWSVNQNNYLS WYQQKQGQPPKLLIYGASIRE SWVPDRFTGSGSGTDFTLTIS NVHAEDLAVYYCQHNHGSFL PYTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:24]
20031	4B11	QVQLQQSGPELVKPGASVKISC KASGYVFSSYWMNWVKQRPG KGLEWIGRIYPGNGDTNYNGK FKDKATLTADKFSSTAYMQLS NLTSEDSAVYFCASYYELDYW GQGTSVTVSS [SEQ ID NO:25]	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASI SCRSSQSLVHSNGNTYLHWY LQKPGQSPKLLIYKVSNRFFG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDLGVYFCSQTTYVPLTFGA GTKLELK [SEQ ID NO:26]
20032	4E6	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITC TVSGFSLTSYAINWVRQPPGKG LEWLGVLWPGGGTNYNSALKS RLSISKDNSKSQVFLKMNSLQT DDTARYYCARGSGTWYFDVW GAGTTVTVSS [SEQ ID NO:27]	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTF SCSASQGISNYLNWYQQKPD GTVKLLIYYTSSLHLGVPSRFS GSGSGTDYSLTISNLEPEDIAT YYCQQYSKLPWTFGGGTKLE IK [SEQ ID NO:28]
20033	4F9	QVQLQQPGAELVKPGASVMLS CKASGYTFTSYWMHWVKQRP GQGLEWIGEINLRNGGTNYYE KFKTRATLTVDKSSSTAYMQL SSLTSEDSAVYYCTILTSAPSY WGQGTLVTVSA [SEQ ID NO:29]	NIVMTQSPKSMSMSVGERVT LSCKASDNVGISVSWYQQKP EQSPKLLIYGASNRYTGVPDR FTGTGSATDFTLTISSVQAEDL ADYHCGQSYSYPFTFGSGTKL EIK [SEQ ID NO:30]
20034	4G10	QLQESGAELLRPGASVKLSCTA SGFNIKDDYLHWVKQRPEQGL	DIVMTQAAFSNPVTLGTSASIS CRSNKSLLHSDGITYLFWYLQ

		EWIGWIDPENGDTEYASKFQG KATIKADTSSNTAYLQLSSLTS EDTAVYYCSTQGFACWGQGTL VTVSA [SEQ ID NO:31]	RPGQSPQLLIYRMSNLASGVP DRFSGSGSGTDFTLRISRVEAE DVGVYYCAQMVEFPRTFGGG TKLEIK [SEQ ID NO:32]
20035	5E2	EVKLVESEGGLVQPGSSMKLS CTASGFTFSDYYMAWVRQVPE KGLEWVAHINYDGSGTYYLDS LKGRFIISRDNAKNILYLQMSSL KSEDTATYYCARDCYGSSSYA VDYWGQGTSVTVSS [SEQ ID NO:33]	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASI SCRSSQSIVHSNGNTYLEWYL QKPGQSPKLLIYKVSNRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA EDLGVYYCFQGSHVPWTFGG GTKLEIK [SEQ ID NO:34]
20036	5G8	QVQLQESGPGLVQPTQSLSITC TVSGFSLISYGVHWVRQSPGKG LEWLGVIWSGGSTDYNAAFISR LSISKDNSKSQVFFKMNSLQAD DTAIYYCARNPLTATVMDYWG QGTSVTVSS [SEQ ID NO:35]	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVS VTCKASQNVGTNVAWYQQK PGQSPKALIYSASYRDSGVPD RFTGSGSGTDFTLTISNVQSED LAEYLCQQYNSYPLTFGAGT KLELK [SEQ ID NO:36]
20037	6B3	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITC TVSGFSLTSYAISWVRQPPGKG LEWLGVIWPGGGTNYNSALKS RLSISKDNSKSQVFLKMNSLQT DDTARYYCARGTGTWYFDVW GAGTTVTVSS [SEQ ID NO:37]	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTIS CSASQGISNYLNWYQQKPDG TVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSG SGSGTDYSLTISNLEPEDIATY YCQQYSDLPWTFGGGTKLEI K [SEQ ID NO:38]

Tabela 14. Sequências de aminoácidos e DNA de cadeias pesadas e leves humanizadas 1C8, 1G1 e 5G8

SEQ ID NO	**DESCRIÇÃO**	**SEQUÊNCIA**
Sequências de proteínas		

45	Sequência 1 de domínio variável de cadeia pesada 1C8 humanizada (H5): CDRs 1C8 de camundongo de cadeia pesada transportados para a estrutura da linhagem germinativa IGHV3-66*03	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFSLTT YAISWVRQAPGKGLEWVSIIWPGGGTNYAD SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGAGTWYFDVWGQGTLVTVSS
51	Sequência de domínio variável de cadeia pesada 1C8 humanizada 2 (H6)	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAVSGFSLTT YAISWVRQAPGKGLEWLGIIWPGGGTNYAD SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGAGTWYFDVWGQGTLVTVSS
52	Sequência 3 de domínio variável de cadeia pesada 1C8 humanizada (H7)	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAVSGFSLTT YAISWVRQAPGKGLEWLGIIWPGGGTNYAD SVKGRFTISKDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGAGTWYFDVWGQGTLVTVSS
53	Sequência de domínio variável de cadeia pesada 1C8 humanizada 4 (H8)	EVQLVESGGGLIQPGGSLRISCAVSGFSLTTY AISWVRQAPGKGLEWLGIIWPGGGTNYADS LKGRLTISKDNSKNTVYLQMNSLRTEDTAV YYCARGAGTWYFDVWGQGTLVTVSS
48	Sequência de domínio variável de cadeia leve 1C8 humanizada 1 (L1): CDRs 1C8 de camundongo de cadeia leve transportados para a estrutura da linhagem germinativa IGKV1D-33*01	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQGISNY LNWYQQKPGKAPKLLIYYTSSLHSGVPSRFS GSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYSKFP WTFGQGTKVEIK
54	Sequência de domínio variável de cadeia leve	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQGISNY LNWYQQKPGKAPKLLIYYTSSLHSGVPSRFS

	1C8 humanizada 2 (L2)	GSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQYSKFP WTFGQGTKLEIK
55	Sequência de domínio variável de cadeia leve 1C8 humanizada 3 (L3)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQGISNY LNWYQQKPGKTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFS GSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQYSKFP WTFGQGTKLEIK
46	Sequência 1 de domínio variável de cadeia pesada 1G1 humanizada (H1): CDRs 1G1 de camundongo de cadeia pesada transportados para a estrutura da linhagem germinativa IGHV3-48*03	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSE FGMHWVRQAPGKGLEWVSYISSGGSTIYYA DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDT AVYYCARDWVDYWGQGTLVTVSS
56	Sequência de domínio variável de cadeia pesada 1G1 humanizada 2 (H2)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSE FGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGGSTIYY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCARDWVDYWGQGTLLTVSS
57	Sequência 3 de domínio variável de cadeia pesada 1G1 humanizada (H3)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSE FGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGGSTIYY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAED TAMYYCARDWVDYWGQGTLLTVSS
49	Sequência de domínio variável de cadeia leve 1G1 humanizada 1 (L1): CDRs 1G1 de camundongo de cadeia leve transportados para a estrutura da linhagem germinativa IGKV3-	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASENVGSY VSWYQQKPGQAPRLLIYGASNRYTGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCGQSYSY PLTFGGGTKVEIK

	11*01	
58	Sequência de domínio variável de cadeia leve 1G1 humanizada 2 (L2)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASENVGSY VSWYQQKPGQAPRLLIYGASNRYTGVPARF SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCGQSYS YPLTFGGGTKVEIK
59	Sequência de domínio variável de cadeia leve 1G1 humanizada 3 (L3)	EIVMTQSPATLSLSPGERVTLSCKASENVGS YVSWYQQKPGQAPRLLIYGASNRYTGVPAR FSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFAVYYCGQSYS YPLTFGGGTKLELK
60	Sequência de domínio variável de cadeia leve 1G1 humanizada 4 (L4)	EIVMTQSPATLSLSPGERVTLSCKASENVGS YVSWYQQKPGQAPRLLIYGASNRYTGVPAR FSGSGSGTDFTLTISSVEPEDLAVYYCGQSY SYPLTFGGGTKLELK
47	Sequência de domínio variável de cadeia pesada 5G8 humanizada 1 (H1): CDRs 5G8 de camundongo de cadeia pesada transportados para a estrutura da linhagem germinativa IGHV4-59*08	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLISY GVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGGSTDYNPS LKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARNPLTATVMDYWGQGTLVTVSS
61	Sequência de domínio variável de cadeia pesada 5G8 humanizada 2 (H2)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLISY GVHWVRQPPGKGLEWLGVIWSGGSTDYNP SLKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARNPLTATVMDYWGQGTLVTVSS
62	Sequência 3 de domínio variável de cadeia pesada 5G8 humanizada (H3)	QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLISY GVHWVRQPPGKGLEWLGVIWSGGSTDYNP SLKSRVTISKDTSKNQVSFKLSSLTAADTAIY YCARNPLTATVMDYWGQGTLVTVSS
63	Sequência de domínio variável de cadeia pesada	QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLISY GVHWVRQPPGKGLEWLGVIWSGGSTDYNP

	5G8 humanizada 4 (H4)	SLKSRVTISKDNSKNQVSFKLSSLTAADTAI YYCARNPLTATVMDYWGQGTLVTVSS
50	Sequência de domínio variável de cadeia leve 5G8 humanizada 1 (L1): CDRs 5G8 de camundongo de cadeia leve transportados para a estrutura da linhagem germinativa IGKV1-16*01	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVGT NVAWFQQKPGKAPKSLIYSASYRDSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPLTFGGGTKVEIK
64	Sequência de domínio variável de cadeia leve 5G8 humanizada 2 (L2)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVGT NVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRDSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPLTFGGGTKVEIK
65	Sequência de domínio variável de cadeia leve 5G8 humanizada 3 (L3)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTVTCRASQNVG TNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRDSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQQY NSYPLTFGGGTKLEIK
66	Sequência de domínio variável de cadeia leve 5G8 humanizada 4 (L4)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTVTCRASQNVG TNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRDSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDLATYYCQQY NSYPLTFGGGTKLEIK
67	Domínio Ckappa de IGKC*01	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
68	IgG1 CH1-dobradiça-CH2-CH3	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDP

		EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
69	Sequência IgG1 Fc 231-446 (numeração EU), sem dobradiça	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG

Tabela 15: Sequências usadas na construção de anticorpos 4-1BB x HER2

SEQ ID NO:	**Parátopo / domínio**	**Alvo**	**Sequência**
71	MOR7480.1 VH	4-1BB	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYS FSTYWISWVRQMPGKGLEWMGKIYPG DSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQ WSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQ GTLVTVSS
72	MOR7480.1 VL	4-1BB	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGD QYAHWYQQKPGQSPVLVIYQDKNRPSG IPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEAD YYCATYTGFGSLAVFGGGTKLTVL
73	Anti-HER2 scFv	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQD VNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGG GSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGGLV

			QPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVY YCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS

Tabela 16: Sequências usadas na preparação de construtos de anticorpo biespecífico 4-1BB x TAA adicionais

Alvo	**Fonte de parátopo**	**SEQ ID NO:**	**Sequência scFv**
Mesotelina	RG7787	74	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYS FTGYTMNWVRQAPGQGLEWMGLITPYN GASSYNQKFRGKATMTVDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCARGGYDGRGFDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMH WYQQKSGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWS KHPLTFGQGTKLEIK
Mesotelina	Anetumabe	75	QVELVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF TSYWIGWVRQAPGKGLEWMGIIDPGDSR TRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARGQLYGGTYMDGWGQG TLVTVSSVEGGSGGSGGSGGSGGVDDIAL TQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGGYNSV SWYQQHPGKAPKLMIYGVNNRPSGVSNR FSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSS YDIESATPVFGGGTKLTVL
NaPi2b	Lifastuzumab e	76	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSF SDFAMSWVRQAPGKGLEWVATIGRVAFH TYYPDSMKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARHRGFDVGHFDFWGQG TLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQ

			SPSSLSASVGDRVTITCRSSETLVHSSGNT YLEWYQQKPGKAPKLLIYRVSNRFSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQ GSFNPLTFGQGTKVEIK
NaPi2b	MX-35	77	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDIG NFLNWYQQKPGKTVKVLIYYTSSLYSGV PSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC QQYSKLPLTFGQGTKLELKGGGGSGGGG SGGGGSQVQLVQSGAEVVKPGASVKMSC KASGYTFTGYNIHWVKQAPGQGLEWIGA IYPGNGDTSYKQKFRGRATLTADTSTSTV YMELSSLRSEDSAVYYCARGETARATFA YWGQGTLVTVSS
FRα	Mirvetuxima be	78	QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTF TGYFMNWVKQSPGQSLEWIGRIHPYDGD TFYNQKFQGKATLTVDKSSNTAHMELLS LTSEDFAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGT TVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSP LSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMH WYHQKPGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFS GSGSKTDFTLTISPVEAEDAATYYCQQSR EYPYTFGGGTKLEIK

Tabela 17: Sequências VH e VL usadas na preparação de construtos

Nome	**Domínio**	**Sequência**
HER2 scFv tendo SEQ ID NO 73	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQ APGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTL VTVSS (SEQ ID NO:322)
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQK PGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:323)

MSLN scFv tendo SEQ ID NO: 74 (RG7787)	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYTMNWVR QAPGQGLEWMGLITPYNGASSYNQKFRGKATMTVDTSTS TVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGYDGRGFDYWGQGTLV TVSS (SEQ ID NO:324)
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMHWYQQKSG KAPKLLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQWSKHPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:325)
MSLN scFv tendo SEQ ID NO: 75 (anetumabe)	VH	QVELVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQ APGKGLEWMGIIDPGDSRTRYSPSFQGQVTISADKSISTAY LQWSSLKASDTAMYYCARGQLYGGTYMDGWGQGTLVT VSS (SEQ ID NO:326)
	VL	DIALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGGYNSVSWYQQH PGKAPKLMIYGVNNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQ AEDEADYYCSSYDIESATPVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:327)
NaPi2b scFv tendo SEQ ID NO: 76 (lifastuzumabe)	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSDFAMSWVRQ APGKGLEWVATIGRVAFHTYYPDSMKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARHRGFDVGHFDFWGQGTLV TVSS (SEQ ID NO:328)
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSETLVHSSGNTYLEW YQQKPGKAPKLLIYRVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCFQGSFNPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:329)
NaPi2b scFv tendo SEQ ID NO: 77 (MX-35)	VH	QVQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTGYNIHWVK QAPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYKQKFRGRATLTADTSTST VYMELSSLRSEDSAVYYCARGETARATFAYWGQGTLVT VSS (SEQ ID NO:330)
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDIGNFLNWYQQKP GKTVKVLIYYTSSLYSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPE DFATYYCQQYSKLPLTFGQGTKLELK (SEQ ID NO:331)
FRα scFv	VH	QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWVK QSPGQSLEWIGRIHPYDGDTFYNQKFQGKATLTVDKSSNT

tendo SEQ ID NO: 78 (mirvetuximabe)		AHMELLSLTSEDFAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:332)
	VL	DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQKPGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTLTISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:333)
8K22	VH	QEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCKASGFTISNNYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTYYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCVRGYVGTSNLWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO:298)
8K22	VL	DIVMTQTPASVEAAVGGTVTIKCQASQSIYSSLAWYQQKPGQSPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTEFTLTISGVQCDDAATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGGGTEVVVK (SEQ ID NO:299)
1H06	VH	QEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCTASKFSFSSLYYMCWVRQAPGKGLEWIACVYGGSSGNTYYASWAKGRFTISKASSTTVTLQLTSLTAADTATYFCARFDVDGSGFNLWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO:300)
1H06	VL	DIVMTQTPSSVSAAVGGTVTIKCQASQTIGSSLAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVSSRFRGSGSGTEYTLTISDLECADAATYYCQWTDYGYIYIWAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO:301)
Pertuzumabe	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:302)
Pertuzumabe	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:303)
Farletuzumabe	VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFTFSGYGLSWVRQAPGKGLEWVAMISSGGSYTYYADSVKGRFAISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCARHGDDPAWFAYWGQGTPVT

		VSS (SEQ ID NO:304)
Farletuzumabe	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSISSNNLHWYQQKP GKAPKPWIYGTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPE DIATYYCQQWSSYPYMYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:305)

Tabela 18: sequências de CDR

NOME SEQ	Definição	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
1H06_VH	Kabat	SLYYMC	CVYGGSSGNTYYASWAKG	FDVDGSGFNL			
	Chothia	KFSFSSLY	YGGSSGN	FDVDGSGFNL			
	IMGT	KFSFSSLYY	VYGGSSGNT	ARFDVDGSGFNL			
	AbM	KFSFSSLYYMC	CVYGGSSGNTY	FDVDGSGFNL			
	Contato	SSLYYMC	WIACVYGGSSGNTY	ARFDVDGSGFN			
1H06_VL	Kabat				QASQTIGSSLA	RASTLAS	QWTDYGYIYIWA
	Chothia				QASQTIGSSLA	RASTLAS	QWTDYGYIYIWA
	IMGT				QTIGSS	RAS	QWTDYGYIYIWA
	AbM				QASQTIGSSLA	RASTLAS	QWTDYGYIYIWA
	Contato				GSSLAWY	LLIYRASTLA	QWTDYGYIYIW

8K22_VH	Kabat	NNYYMC	CIYGGISGRTYYASWAKG	GYVGTSNL			
	Chothia	GFTISNNY	YGGISGR	GYVGTSNL			
	IMGT	GFTISNNYY	IYGGISGRT	VRGYVGTSNL			
	AbM	GFTISNNYYMC	CIYGGISGRTY	GYVGTSNL			
	Contato	SNNYYMC	WIACIYGGISGRTY	VRGYVGTSN			
8K22_VL	Kabat				QASQSIYSSLA	DASHLAS	QQGGWYSSAATYVPNT
	Chothia				QASQSIYSSLA	DASHLAS	QQGGWYSSAATYVPNT
	IMGT				QSIYSS	DAS	QQGGWYSSAATYVPNT
	AbM				QASQSIYSSLA	DASHLAS	QQGGWYSSAATYVPNT
	Contato				YSSLAWY	LLIYDASHLA	QQGGWYSSAATYVPN
1G1 VL de camundongo ou 3E7 VL de	Kabat				KASENVGSYVS	GASNRYT	GQSYSYPLT
	Chothia				KASENVGSYV	GASNRYT	GQSYSYPLT

camundongo					S		
correspondendo	IMGT				ENVGSY	GAS	GQSYSYPLT
a	AbM				KASENVGSYV	GASNRYT	GQSYSYPLT
SEQ ID NO:10					S		
	Contato				GSYVSWY	LLIYGAS	GQSYSYPL
						NRY	
2A7 VH de	Kabat	SYVMH	YINPYNDGT	LGSRGTWFAY			
camundongo			KYNEKFKG				
correspondendo	Chothia	GYTFTSY	NPYNDG	LGSRGTWFAY			
a	IMGT	GYTFTSYV	INPYNDGT	ARLGSRGTWFA			
SEQ ID NO:11				Y			
	AbM	GYTFTSYV	YINPYNDGT	LGSRGTWFAY			
		MH	K				
	Contato	TSYVMH	WIGYINPYN	ARLGSRGTWFA			
			DGTK				
2A7 VL de	Kabat				KASQDVGTAV	WASTRRT	QQYSSYPLT
camundongo					G		
correspondendo	Chothia				KASQDVGTAV	WASTRRT	QQYSSYPLT
a					G		
SEQ ID NO: 12	IMGT				QDVGTA	WAS	QQYSSYPLT
	AbM				KASQDVGTAV	WASTRRT	QQYSSYPLT

					G		
	Contato				GTAVGWY	LLIYWAS TRR	QQYSSYPL
2E8 VH de camundongo correspondendo a SEQ ID NO: 13	Kabat	SYGVH	VIWSGGSTD YNAAFIS	NPLTATVMDY			
	Chothia	GFSLTSY	WSGGS	NPLTATVMDY			
	IMGT	GFSLTSYG	IWSGGST	ARNPLTATVMD Y			
	AbM	GFSLTSYGV H	VIWSGGSTD	NPLTATVMDY			
	Contato	TSYGVH	WLGVIWSG GSTD	ARNPLTATVMD			
2E8 VL de camundongo correspondendo a SEQ ID NO: 14	Kabat				KASQNVGTNV A	SASYRHS	QQYNSYPLT
	Chothia				KASQNVGTNV A	SASYRHS	QQYNSYPLT
	IMGT				QNVGTN	SAS	QQYNSYPLT
	AbM				KASQNVGTNV A	SASYRHS	QQYNSYPLT
	Contato				GTNVAWY	VLIYSAS YRH	QQYNSYPL

2H9 VH de camundongo correspondendo a SEQ ID NO: 15	Kabat	SYWMS	RIDPYDSETHYNQKFKD	TYYGNYDAMDY			
	Chothia	GYPFTSY	DPYDSE	TYYGNYDAMDY			
	IMGT	GYPFTSYW	IDPYDSET	ARTYYGNYDAMDY			
	AbM	GYPFTSYWMS	RIDPYDSETH	TYYGNYDAMDY			
	Contato	TSYWMS	WIGRIDPYDSETH	ARTYYGNYDAMD			
2H9 VL de camundongo correspondendo a SEQ ID NO: 16	Kabat				RSSKSLLHSYGITYLY	QMSNLAS	AQNLELPLT
	Chothia				RSSKSLLHSYGITYLY	QMSNLAS	AQNLELPLT
	IMGT				KSLLHSYGITY	QMS	AQNLELPLT
	AbM				RSSKSLLHSYGITYLY	QMSNLAS	AQNLELPLT
	Contato				LHSYGITYLYWY	LLIYQMSNLA	AQNLELPL
3D7 VH de camundongo correspondendo	Kabat	SYWIN	NIYPSDNYTNYNQKFKD	GGGIYYENYFDY			
	Chothia	GYTFTSY	YPSDNY	GGGIYYENYFDY			

a SEQ ID NO:17	IMGT	GYTFTSYW	IYPSDNYT	TRGGGIYYENYFDY			
	AbM	GYTFTSYWIN	NIYPSDNYTN	GGGIYYENYFDY			
	Contato	TSYWIN	WIGNIYPSDNYTN	TRGGGIYYENYFD			
3D7 VL de camundongo correspondendo a SEQ ID NO: 18	Kabat				SASSSVSYMH	DTSKLAS	QQWSSNPPT
	Chothia				SASSSVSYMH	DTSKLAS	QQWSSNPPT
	IMGT				SSVSY	DTS	QQWSSNPPT
	AbM				SASSSVSYMH	DTSKLAS	QQWSSNPPT
	Contato				SYMHWY	RWVYDTSKLA	QQWSSNPP
3H1 VH de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:19	Kabat	PIAYMS	DILPSIGRTIYGEKFED	GDYYYGSREYAMDY			
	Chothia	DSEVFPIA	LPSIGR	GDYYYGSREYAMDY			
	IMGT	DSEVFPIAY	ILPSIGRT	SRGDYYYGSREYAMDY			
	AbM	DSEVFPIAYMS	DILPSIGRTI	GDYYYGSREYAMDY			
	Contato	FPIAYMS	WIGDILPSIG	SRGDYYYGSREY			

			RTI	AMD			
3H1 VL de camundongo correspondente a SEQ ID NO:20	Kabat				RSSQSLVHSNGNTYLH	KVSNRFF	SQTTYVPLT
	Chothia				RSSQSLVHSNGNTYLH	KVSNRFF	SQTTYVPLT
	IMGT				QSLVHSNGNTY	KVS	SQTTYVPLT
	AbM				RSSQSLVHSNGNTYLH	KVSNRFF	SQTTYVPLT
	Contato				VHSNGNTYLHWY	LLIYKVSNRF	SQTTYVPL
3E7 VH de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:21	Kabat	EFGMH	YISSGSSTIYYADTVKG	DWVDY			
	Chothia	GFTFSEF	SSGSST	DWVDY			
	IMGT	GFTFSEFG	ISSGSSTI	ARDWVDY			
	AbM	GFTFSEFGMH	YISSGSSTIY	DWVDY			
	Contato	SEFGMH	WVAYISSGSSTIY	ARDWVD			
3G4 VH de camundongo	Kabat	SYGVH	VIWSGGSTDYNGAFIS	DRGGGFDY			

correspondendo a SEQ ID NO:23	Chothia	GFSLTSY	WSGGS	DRGGGFDY			
	IMGT	GFSLTSYG	IWSGGST	ARDRGGGFDY			
	AbM	GFSLTSYGVH	VIWSGGSTD	DRGGGFDY			
	Contato	TSYGVH	WLGVIWSGGSTD	ARDRGGGFD			
3G4 VL de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:24	Kabat				KSSQSLLWSVNQNNYLS	GASIRES	QHNHGSFLPYT
	Chothia				KSSQSLLWSVNQNNYLS	GASIRES	QHNHGSFLPYT
	IMGT				QSLLWSVNQNNY	GAS	QHNHGSFLPYT
	AbM				KSSQSLLWSVNQNNYLS	GASIRES	QHNHGSFLPYT
	Contato				LWSVNQNNYLSWY	LLIYGASIRE	QHNHGSFLPY
4B11 VH de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:25	Kabat	SYWMN	RIYPGNGDTNYNGKFKD	YYELDY			
	Chothia	GYVFSSY	YPGNGD	YYELDY			
	IMGT	GYVFSSYW	IYPGNGDT	ASYYELDY			
	AbM	GYVFSSYW	RIYPGNGDT	YYELDY			

		MN	N				
	Contato	SSYWMN	WIGRIYPGNGDTN	ASSYYELD			
4B11 VL de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:26	Kabat				RSSQSLVHSNGNTYLH	KVSNRFF	SQTTYVPLT
	Chothia				RSSQSLVHSNGNTYLH	KVSNRFF	SQTTYVPLT
	IMGT				QSLVHSNGNTY	KVS	SQTTYVPLT
	AbM				RSSQSLVHSNGNTYLH	KVSNRFF	SQTTYVPLT
	Contato				VHSNGNTYLHWY	LLIYKVSNRF	SQTTYVPL
4E6 VH de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:27	Kabat	SYAIN	VLWPGGGTNYNSALKS	GSGTWYFDV			
	Chothia	GFSLTSY	WPGGG	GSGTWYFDV			
	IMGT	GFSLTSYA	LWPGGGT	ARGSGTWYFDV			
	AbM	GFSLTSYAIN	VLWPGGGTN	GSGTWYFDV			
	Contato	TSYAIN	WLGVLWPGGGTN	ARGSGTWYFD			

4E6 VL de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:28	Kabat				SASQGISNYLN	YTSSLHL	QQYSKLPWT
	Chothia				SASQGISNYLN	YTSSLHL	QQYSKLPWT
	IMGT				QGISNY	YTS	QQYSKLPWT
	AbM				SASQGISNYLN	YTSSLHL	QQYSKLPWT
	Contato				SNYLNWY	LLIYYTSSLH	QQYSKLPW
4F9 VH de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:29	Kabat	SYWMH	EINLRNGGTNYYEKFKT	LTSAPSY			
	Chothia	GYTFTSY	NLRNGG	LTSAPSY			
	IMGT	GYTFTSYW	INLRNGGT	TILTSAPSY			
	AbM	GYTFTSYWMH	EINLRNGGTN	LTSAPSY			
	Contato	TSYWMH	WIGEINLRNGGTN	TILTSAPS			
1B2 VH de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:3	Kabat	SFWIN	NIYPDSSSTNYNEKFKN	SLTFDY			
	Chothia	GYTFTSF	YPDSSS	SLTFDY			
	IMGT	GYTFTSFW	IYPDSSST	ARSLTFDY			
	AbM	GYTFTSFWIN	NIYPDSSSTN	SLTFDY			
	Contato	TSFWIN	WIGNIYPDSS	ARSLTFD			

			STN				
4F9 VL de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:30	Kabat				KASDNVGISVS	GASNRYT	GQSYSYPFT
	Chothia				KASDNVGISVS	GASNRYT	GQSYSYPFT
	IMGT				DNVGIS	GAS	GQSYSYPFT
	AbM				KASDNVGISVS	GASNRYT	GQSYSYPFT
	Contato				GISVSWY	LLIYGASNRY	GQSYSYPF
4G10 VH de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:31	Kabat	DDYLH	WIDPENGDTEYASKFQG	QGFAC			
	Chothia	GFNIKDD	DPENGD	QGFAC			
	IMGT	GFNIKDDY	IDPENGDT	STQGFAC			
	AbM	GFNIKDDYLH	WIDPENGDTE	QGFAC			
	Contato	KDDYLH	WIGWIDPENGDTE	STQGFA			
4G10 VL de camundongo correspondendo	Kabat				RSNKSLLHSDGITYLF	RMSNLAS	AQMVEFPRT
	Chothia				RSNKSLLHSD	RMSNLAS	AQMVEFPRT

a					GITYLF		
SEQ ID NO:32	IMGT				KSLLHSDGITY	RMS	AQMVEFPRT
	AbM				RSNKSLLHSDGITYLF	RMSNLAS	AQMVEFPRT
	Contato				LHSDGITYLFWY	LLIYRMSNLA	AQMVEFPR
5E2 VH de camundongo	Kabat	DYYMA	HINYDGSGTYYLDSLKG	DCYGSSSYAVDY			
correspondendo	Chothia	GFTFSDY	NYDGSG	DCYGSSSYAVDY			
a	IMGT	GFTFSDYY	INYDGSGT	ARDCYGSSSYAVDY			
SEQ ID NO: 33	AbM	GFTFSDYYMA	HINYDGSGTY	DCYGSSSYAVDY			
	Contato	SDYYMA	WVAHINYDGSGTY	ARDCYGSSSYAVD			
5E2 VL de camundongo	Kabat				RSSQSIVHSNGNTYLE	KVSNRFS	FQGSHVPWT
correspondendo	Chothia				RSSQSIVHSNGNTYLE	KVSNRFS	FQGSHVPWT
a							
SEQ ID NO: 34	IMGT				QSIVHSNGNTY	KVS	FQGSHVPWT

	AbM				RSSQSIVHSNGNTYLE	KVSNRFS	FQGSHVPWT
	Contato				VHSNGNTYLEWY	LLIYKVSNRF	FQGSHVPW
5G8 VH de camundongo correspondendo a SEQ ID NO: 35	Kabat	SYGVH	VIWSGGSTDYNAAFIS	NPLTATVMDY			
	Chothia	GFSLISY	WSGGS	NPLTATVMDY			
	IMGT	GFSLISYG	IWSGGST	ARNPLTATVMDY			
	AbM	GFSLISYGVH	VIWSGGSTD	NPLTATVMDY			
	Contato	ISYGVH	WLGVIWSGGSTD	ARNPLTATVMD			
5G8 VL de camundongo correspondendo a SEQ ID NO: 36	Kabat				KASQNVGTNVA	SASYRDS	QQYNSYPLT
	Chothia				KASQNVGTNVA	SASYRDS	QQYNSYPLT
	IMGT				QNVGTN	SAS	QQYNSYPLT
	AbM				KASQNVGTNVA	SASYRDS	QQYNSYPLT
	Contato				GTNVAWY	ALIYSAS	QQYNSYPL

						YRD	
6B3 VL de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:38	Kabat				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSDLPWT
	Chothia				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSDLPWT
	IMGT				QGISNY	YTS	QQYSDLPWT
	AbM				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSDLPWT
	Contato				SNYLNWY	LLIYYTSSLH	QQYSDLPW
1B2 VL de camundongo correspondendo a SEQ ID NO: 4	Kabat				RSSQSIVHSNGNTYLE	KVSNRFS	FQGSHVPYT
	Chothia				RSSQSIVHSNGNTYLE	KVSNRFS	FQGSHVPYT
	IMGT				QSIVHSNGNTY	KVS	FQGSHVPYT
	AbM				RSSQSIVHSNGNTYLE	KVSNRFS	FQGSHVPYT
	Contato				VHSNGNTYLEWY	LLIYKVSNRF	FQGSHVPY
1C8 VH H5 humanizado correspondente a	Kabat	TYAIS	IIWPGGGTNYADSVKG	GAGTWYFDV			
	Chothia	GFSLTTY	WPGGG	GAGTWYFDV			
	IMGT	GFSLTTYA	IWPGGGT	ARGAGTWYFDV			

SEQ ID NO:45	AbM	GFSLTTYAIS	IIWPGGGTN	GAGTWYFDV			
	Contato	TTYAIS	WVSIIWPGGGTN	ARGAGTWYFD			
1G1 VH H1 humanizado correspondendo a SEQ ID NO:46	Kabat	EFGMH	YISSGGSTIYYADSVKG	DWVDY			
	Chothia	GFTFSEF	SSGGST	DWVDY			
	IMGT	GFTFSEFG	ISSGGSTI	ARDWVDY			
	AbM	GFTFSEFGMH	YISSGGSTIY	DWVDY			
	Contato	SEFGMH	WVSYISSGGSTIY	ARDWVD			
5G8 VH H1 humanizado correspondendo a SEQ ID NO:47	Kabat	SYGVH	VIWSGGSTDYNPSLKS	NPLTATVMDY			
	Chothia	GFSLISY	WSGGS	NPLTATVMDY			
	IMGT	GFSLISYG	IWSGGST	ARNPLTATVMDY			
	AbM	GFSLISYGVH	VIWSGGSTD	NPLTATVMDY			
	Contato	ISYGVH	WIGVIWSGGSTD	ARNPLTATVMD			

1C8 VL L1 humanizado correspondente a SEQ ID NO:48	Kabat				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSKFPWT
	Chothia				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSKFPWT
	IMGT				QGISNY	YTS	QQYSKFPWT
	AbM				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSKFPWT
	Contato				SNYLNWY	LLIYYTSSLH	QQYSKFPW
1G1 VL L1 humanizado correspondente a SEQ ID NO:49	Kabat				KASENVGSYVS	GASNRYT	GQSYSYPLT
	Chothia				KASENVGSYVS	GASNRYT	GQSYSYPLT
	IMGT				ENVGSY	GAS	GQSYSYPLT
	AbM				KASENVGSYVS	GASNRYT	GQSYSYPLT
	Contato				GSYVSWY	LLIYGASNRY	GQSYSYPL
1C3 VH de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:5	Kabat	SYGVH	VIWRGGSTDYNAAFIS	ENYDYDEFAY			
	Chothia	GFSLTSY	WRGGS	ENYDYDEFAY			
	IMGT	GFSLTSYG	IWRGGST	ARENYDYDEFAY			
	AbM	GFSLTSYGV	VIWRGGSTD	ENYDYDEFAY			

		H					
	Contato	TSYGVH	WLGVIWRGGSTD	ARENYDYDEFA			
5G8 VL L1 humanizado correspondente a SEQ ID NO:50	Kabat				RASQNVGTNVA	SASYRDS	QQYNSYPLT
	Chothia				RASQNVGTNVA	SASYRDS	QQYNSYPLT
	IMGT				QNVGTN	SAS	QQYNSYPLT
	AbM				RASQNVGTNVA	SASYRDS	QQYNSYPLT
	Contato				GTNVAWF	SLIYSASYRD	QQYNSYPL
1C8 VH H6 humanizado correspondente a SEQ ID NO:51	Kabat	TYAIS	IIWPGGGTNYADSVKG	GAGTWYFDV			
	Chothia	GFSLTTY	WPGGG	GAGTWYFDV			
	IMGT	GFSLTTYA	IWPGGGT	ARGAGTWYFDV			
	AbM	GFSLTTYAIS	IIWPGGGTN	GAGTWYFDV			
	Contato	TTYAIS	WLGIIWPGGGTN	ARGAGTWYFD			
1C8 VH H7	Kabat	TYAIS	IIWPGGGTN	GAGTWYFDV			

humanizado correspondente a SEQ ID NO:52			YADSVKG				
	Chothia	GFSLTTY	WPGGG	GAGTWYFDV			
	IMGT	GFSLTTYA	IWPGGGT	ARGAGTWYFDV			
	AbM	GFSLTTYAIS	IIWPGGGTN	GAGTWYFDV			
	Contato	TTYAIS	WLGIIWPGGGTN	ARGAGTWYFD			
1C8 VH H8 humanizado correspondente a SEQ ID NO:53	Kabat	TYAIS	IIWPGGGTN YADSLKG	GAGTWYFDV			
	Chothia	GFSLTTY	WPGGG	GAGTWYFDV			
	IMGT	GFSLTTYA	IWPGGGT	ARGAGTWYFDV			
	AbM	GFSLTTYAIS	IIWPGGGTN	GAGTWYFDV			
	Contato	TTYAIS	WLGIIWPGGGTN	ARGAGTWYFD			
1C8 VL L2 humanizado correspondente a SEQ ID NO:54	Kabat				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSKFPWT
	Chothia				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSKFPWT
	IMGT				QGISNY	YTS	QQYSKFPWT
	AbM				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSKFPWT
	Contato				SNYLNWY	LLIYYTSSLH	QQYSKFPW

1C8 VL L3 humanizado correspondente a SEQ ID NO:55	Kabat				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSKFPWT
	Chothia				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSKFPWT
	IMGT				QGISNY	YTS	QQYSKFPWT
	AbM				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSKFPWT
	Contato				SNYLNWY	LLIYYTSSLH	QQYSKFPW
1G1 VH H2 humanizado correspondendo a SEQ ID NO:56	Kabat	EFGMH	YISSGGSTIYYADSVKG	DWVDY			
	Chothia	GFTFSEF	SSGGST	DWVDY			
	IMGT	GFTFSEFG	ISSGGSTI	ARDWVDY			
	AbM	GFTFSEFGMH	YISSGGSTIY	DWVDY			
	Contato	SEFGMH	WVAYISSGGSTIY	ARDWVD			
1G1 VH H3 humanizado correspondendo a SEQ ID NO:57	Kabat	EFGMH	YISSGGSTIYYADSVKG	DWVDY			
	Chothia	GFTFSEF	SSGGST	DWVDY			
	IMGT	GFTFSEFG	ISSGGSTI	ARDWVDY			
	AbM	GFTFSEFGMH	YISSGGSTIY	DWVDY			
	Contato	SEFGMH	WVAYISSGG	ARDWVD			

			STIY				
1G1 VL L2 humanizado correspondente a SEQ ID NO:58	Kabat				KASENVGSYVS	GASNRYT	GQSYSYPLT
	Chothia				KASENVGSYVS	GASNRYT	GQSYSYPLT
	IMGT				ENVGSY	GAS	GQSYSYPLT
	AbM				KASENVGSYVS	GASNRYT	GQSYSYPLT
	Contato				GSYVSWY	LLIYGASNRY	GQSYSYPL
1G1 VL L3 humanizado correspondente a SEQ ID NO:59	Kabat				KASENVGSYVS	GASNRYT	GQSYSYPLT
	Chothia				KASENVGSYVS	GASNRYT	GQSYSYPLT
	IMGT				ENVGSY	GAS	GQSYSYPLT
	AbM				KASENVGSYVS	GASNRYT	GQSYSYPLT
	Contato				GSYVSWY	LLIYGASNRY	GQSYSYPL
1C3 VL de camundongo	Kabat				RSSQSIVHSNGNTYLE	KVSNRFS	FQGSHVPYT

correspondendo a SEQ ID NO:6	Chothia				RSSQSIVHSNGNTYLE	KVSNRFS	FQGSHVPYT
	IMGT				QSIVHSNGNTY	KVS	FQGSHVPYT
	AbM				RSSQSIVHSNGNTYLE	KVSNRFS	FQGSHVPYT
	Contato				VHSNGNTYLEWY	LLIYKVSNRF	FQGSHVPY
1G1 VL humanizado L4 correspondente a SEQ ID NO:60	Kabat				KASENVGSYVS	GASNRYT	GQSYSYPLT
	Chothia				KASENVGSYVS	GASNRYT	GQSYSYPLT
	IMGT				ENVGSY	GAS	GQSYSYPLT
	AbM				KASENVGSYVS	GASNRYT	GQSYSYPLT
	Contato				GSYVSWY	LLIYGASNRY	GQSYSYPL
5G8 VH H2 humanizado correspondendo a	Kabat	SYGVH	VIWSGGSTDYNPSLKS	NPLTATVMDY			
	Chothia	GFSLISY	WSGGS	NPLTATVMDY			
	IMGT	GFSLISYG	IWSGGST	ARNPLTATVMD			

SEQ ID NO:61				Y			
	AbM	GFSLISYGVH	VIWSGGSTD	NPLTATVMDY			
	Contato	ISYGVH	WLGVIWSGGSTD	ARNPLTATVMD			
5G8 VH H3 humanizado correspondendo a SEQ ID NO:62	Kabat	SYGVH	VIWSGGSTDYNPSLKS	NPLTATVMDY			
	Chothia	GFSLISY	WSGGS	NPLTATVMDY			
	IMGT	GFSLISYG	IWSGGST	ARNPLTATVMDY			
	AbM	GFSLISYGVH	VIWSGGSTD	NPLTATVMDY			
	Contato	ISYGVH	WLGVIWSGGSTD	ARNPLTATVMD			
5G8 VH H4 humanizado correspondendo a SEQ ID NO:63	Kabat	SYGVH	VIWSGGSTDYNPSLKS	NPLTATVMDY			
	Chothia	GFSLISY	WSGGS	NPLTATVMDY			
	IMGT	GFSLISYG	IWSGGST	ARNPLTATVMDY			
	AbM	GFSLISYGVH	VIWSGGSTD	NPLTATVMDY			

	Contato	ISYGVH	WLGVIWSG GSTD	ARNPLTATVMD			
5G8 VL L2 humanizado correspondente a SEQ ID NO:64	Kabat				RASQNVGTNV A	SASYRDS	QQYNSYPLT
	Chothia				RASQNVGTNV A	SASYRDS	QQYNSYPLT
	IMGT				QNVGTN	SAS	QQYNSYPLT
	AbM				RASQNVGTNV A	SASYRDS	QQYNSYPLT
	Contato				GTNVAWY	ALIYSAS YRD	QQYNSYPL
5G8 VL L3 humanizado correspondente a SEQ ID NO:65	Kabat				RASQNVGTNV A	SASYRDS	QQYNSYPLT
	Chothia				RASQNVGTNV A	SASYRDS	QQYNSYPLT
	IMGT				QNVGTN	SAS	QQYNSYPLT
	AbM				RASQNVGTNV A	SASYRDS	QQYNSYPLT
	Contato				GTNVAWY	ALIYSAS YRD	QQYNSYPL
5G8 VL L4	Kabat				RASQNVGTNV	SASYRDS	QQYNSYPLT

humanizado correspondente a SEQ ID NO:66					A		
	Chothia				RASQNVGTNVA	SASYRDS	QQYNSYPLT
	IMGT				QNVGTN	SAS	QQYNSYPLT
	AbM				RASQNVGTNVA	SASYRDS	QQYNSYPLT
	Contato				GTNVAWY	ALIYSASYRD	QQYNSYPL
1C8 VH de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:7	Kabat	TYAIS	IIWPGGGTNYNSALKS	GAGTWYFDV			
	Chothia	GFSLTTY	WPGGG	GAGTWYFDV			
	IMGT	GFSLTTYA	IWPGGGT	ARGAGTWYFDV			
	AbM	GFSLTTYAIS	IIWPGGGTN	GAGTWYFDV			
	Contato	TTYAIS	WLGIIWPGGGTN	ARGAGTWYFD			
1C8 VL de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:8	Kabat				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSKFPWT
	Chothia				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSKFPWT
	IMGT				QGISNY	YTS	QQYSKFPWT
	AbM				SASQGISNYLN	YTSSLHS	QQYSKFPWT
	Contato				SNYLNWY	LLIYYTSS	QQYSKFPW

						LH	
1G1 VH de camundongo correspondendo a SEQ ID NO:9	Kabat	EFGMH	YISSGGSTIY YADTVKG	DWVDY			
	Chothia	GFTFSEF	SSGGST	DWVDY			
	IMGT	GFTFSEFG	ISSGGSTI	ARDWVDY			
	AbM	GFTFSEFGM H	YISSGGSTIY	DWVDY			
	Contato	SEFGMH	WVAYISSGG STIY	ARDWVD			

Tabela 19: Composição VH e VL de variantes de anticorpo 8K22 humanizado

Variante No.	Descrição	Composição
23820	**quimera parental coelho-humano 8K22**	**HL**
23794	Variante 8K22 humanizado	H1L1
23795	Variante 8K22 humanizado	H2L1
23796	Variante 8K22 humanizado	H3L1
23797	Variante 8K22 humanizado	H4L1
23798	Variante 8K22 humanizado	H5L1
23799	Variante 8K22 humanizado	H1L2
23800	Variante 8K22 humanizado	H2L2
23801	Variante 8K22 humanizado	H3L2
23802	Variante 8K22 humanizado	H4L2
23803	Variante 8K22 humanizado	H5L2
23804	Variante 8K22 humanizado	H1L3
23805	Variante 8K22 humanizado	H2L3
23806	Variante 8K22 humanizado	H3L3
23807	Variante 8K22 humanizado	H4L3
23808	Variante 8K22 humanizado	H5L3
23809	Variante 8K22 humanizado	H1L4
23810	Variante 8K22 humanizado	H2L4
23811	Variante 8K22 humanizado	H3L4
23812	Variante 8K22 humanizado	H4L4
23813	Variante 8K22 humanizado	H5L4
23814	Variante 8K22 humanizado	H1L5
23815	Variante 8K22 humanizado	H2L5
23816	Variante 8K22 humanizado	H3L5
23817	Variante 8K22 humanizado	H4L5
23818	Variante 8K22 humanizado	H5L5

Tabela 20. Sequências de aminoácidos de 8K22 humanizado de cadeia pesada e leve

SEQ ID NO	DESCRIÇÃO	SEQUÊNCIA
298	Sequência de domínio variável de cadeia pesada de coelho 8K22 (H)	Fornecido na Tabela 17
306	CDRs de 8K22 de coelho de cadeia pesada transportados para a estrutura da linhagem germinativa IGHV3-66*01 (H0) (também fornecido na Figura 40)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISN NYYMCWVRQAPGKGLEWVSCIYGGISGRT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGYVGTSNLWGQGTLVTVSS
307	Sequência de domínio variável de cadeia pesada 8K22 humanizada 1 (H1) (SEQ ID NO:307)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISN NYYMCWVRQAPGKGLEWVSCIYGGISGRT YYADSVKGRFTISKDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVTVSS
308	Sequência de domínio variável de cadeia pesada 8K22 humanizada 2 (H2)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISN NYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTY YADSAKGRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAE DTAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVTVSS
309	Sequência de domínio variável de cadeia pesada 8K22 humanizada 3 (H3)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISN NYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTY YADSAKGRFTISKDSSKNTVYLQMNSLRAE DTAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVTVSS

310	Sequência de domínio variável de cadeia pesada 8K22 humanizada 4 (H4)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISN NYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTY YADSAKGRFTISKDSSNTVYLQMNSLRAED TAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVTVSS
311	Sequência de domínio variável de cadeia pesada 8K22 humanizada 5 (H5)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISN NYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTY YADWAKGRFTISKDSSKNTVYLQMNSLRAE DTAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVTVSS
299	Sequência de domínio variável de cadeia leve de coelho 8K22 (L)	Fornecido na Tabela 17
312	CDRs de 8K22 de coelho de cadeia leve transportados para a estrutura da linhagem germinativa IGKV1-39*01 (L0) (também fornecido na Figura 40)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSS LAWYQQKPGKAPKLLIYDASHLASGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQGGWY SSAATYVPNTFGGGTKLEIK
313	Sequência de domínio variável de cadeia leve 8K22 humanizada 1 (L1)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSS LAWYQQKPGKAPKLLIYDASHLASGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQGGWY SSAATYVPNTFGGGTKVEIK
314	Sequência de domínio variável de cadeia leve 8K22 humanizada 2(L2)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSS LAWYQQKPGKAPKLLIYDASHLASGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQGGWY SSAATYVPNTFGGGTKVEVK

315	Sequência de domínio variável de cadeia leve 8K22 humanizada 3 (L3)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSS LAWYQQKPGKAPKLLIYDASHLASGVPSRF SGSRYGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQGGW YSSAATYVPNTFGGGTKVEVK
316	Sequência de domínio variável de cadeia leve 8K22 humanizada 4 (L4)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSS LAWYQQKPGKAPKLLIYDASHLASGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSVQPEDAATYYCQGGW YSSAATYVPNTFGGGTKVEVK
317	Sequência de domínio variável de cadeia leve 8K22 humanizada 5 (L5)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSS LAWYQQKPGKAPKLLIYDASHLASGVPSRF SGSRYGTDFTLTISSVQPEDAATYYCQGGW YSSAATYVPNTFGGGTKVEVK
67	Domínio Ckappa de IGKC*01	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
318	IgG1 CH1-dobradiça-CH2-CH3 (limites do domínio); D1 - P10, CH2; A11 - K120, CH3; G121 - G226), inclui substituições L234A, L235A, D265S	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

319	Sequência IgG1 Fc 231-446 (numeração EU), sem dobradiça, inclui substituições L234A, L235A, D265S	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG

Tabela 21: Avaliação da ligação ao antígeno das variantes do anticorpo 8K22 humanizado por Octeto

Variante No.	Descrição	Sobrenadante (n = 1)	Purificado (n = 2)	
		KD (M)	KD médio (M)	STDev KD (M)
23820	quimera parental coelho-humano 8K22	**5,94E-09**	**4,11E-09**	**3,08E-10**
23794	Variante 8K22 humanizado	1,51E-08	7,36E-09	6,17E-10
23795	Variante 8K22 humanizado	3,57E-08	ND	ND
23796	Variante 8K22 humanizado	2,22E-08	1,12E-08	3,88E-09
23797	Variante 8K22 humanizado	1,49E-08	1,19E-08	2,89E-09
23798	Variante 8K22 humanizado	1,19E-08	6,85E-09	2,42E-09
23799	Variante 8K22 humanizado	1,38E-08	4,8E-09	9,85E-10
23800	Variante 8K22 humanizado	3,65E-08	ND	ND
23801	Variante 8K22 humanizado	2,21E-08	8,66E-09	7,19E-10
23802	Variante 8K22 humanizado	1,79E-08	8,53E-09	2,62E-09
23803	Variante 8K22 humanizado	3,17E-08	ND	ND

Variante No.	Descrição	Sobrenadante (n = 1)	Purificado (n = 2)	
		KD (M)	KD médio (M)	STDev KD (M)
23804	Variante 8K22 humanizado	9,29E-09	4,66E-09	1,5E-09
23805	Variante 8K22 humanizado	1,62E-08	1,02E-08	2,64E-09
23806	Variante 8K22 humanizado	1,15E-08	7,00E-09	4,55E-10
23807	Variante 8K22 humanizado	1,09E-08	7,07E-09	7,64E-10
23808	Variante 8K22 humanizado	1,93E-08	1,31E-08	7,78E-10
23809	Variante 8K22 humanizado	1,21E-08	9,03E-09	3,63E-10
23810	Variante 8K22 humanizado	3,5E-08	ND	ND
23811	Variante 8K22 humanizado	2,25E-08	8,83E-09	5,69E-09
23812	Variante 8K22 humanizado	1,95E-08	8,74E-09	3,42E-09
23813	Variante 8K22 humanizado	3,46E-08	ND	ND
23814	Variante 8K22 humanizado	1,01E-08	6,31E-09	2,64E-10
23815	Variante 8K22 humanizado	1,67E-08	1,65E-08	5,11E-09
23816	Variante 8K22 humanizado	1,04E-08	1,06E-08	2,98E-09
23817	Variante 8K22 humanizado	9,5E-09	6,41E-09	1,23E-09
23818	Variante 8K22 humanizado	1,74E-08	6,13E-09	2,61E-09

ND = Não Determinado.

Tabela 22: Avaliação da estabilidade térmica das variantes do anticorpo 8K22 humanizado por DSC

Variante No.	Descrição	Fab Tm (ºC)
23820	quimera parental coelho-humano 8K22	**69,16**
23794	Variante 8K22 humanizado	74,21
23795	Variante 8K22 humanizado	ND
23796	Variante 8K22 humanizado	71,0, 76,61*
23797	Variante 8K22 humanizado	75,51

23798	Variante 8K22 humanizado	72,61, 77,5 *
23799	Variante 8K22 humanizado	72,99
23800	Variante 8K22 humanizado	ND
23801	Variante 8K22 humanizado	70,0, 75,56 *
23802	Variante 8K22 humanizado	74,56
23803	Variante 8K22 humanizado	ND
23804	Variante 8K22 humanizado	69,88
23805	Variante 8K22 humanizado	71,37
23806	Variante 8K22 humanizado	71,2
23807	Variante 8K22 humanizado	70,46
23808	Variante 8K22 humanizado	69,55
23809	Variante 8K22 humanizado	77,35
23810	Variante 8K22 humanizado	ND
23811	Variante 8K22 humanizado	81,07
23812	Variante 8K22 humanizado	79,18
23813	Variante 8K22 humanizado	ND
23814	Variante 8K22 humanizado	73,91
23815	Variante 8K22 humanizado	75,84
23816	Variante 8K22 humanizado	75,48
23817	Variante 8K22 humanizado	75,19
23818	Variante 8K22 humanizado	71,41, 75,0 *

ND-não determinado, *exibiu transição de dois estados

Tabela X: Composição do Clone Variante

Variante	**H1 clone #**	**L1 clone #**	**H2 clone #**	**L2 clone #**
12592	2871	2872	4667	2872
13725	8656	8653	8659	8653
16976	10619	8653	10620	8653
19353	13401	11150	13401	11150
20021	14385	14402	14385	14402

20022	14386	14471	14386	14471
20023	14387	14409	14387	14409
20024	14388	14404	14388	14404
20025	14389	14405	14389	14405
20026	14390	14406	14390	14406
20027	14391	14407	14391	14407
20028	14392	14408	14392	14408
20029	14393	14409	14393	14409
20030	14394	14410	14394	14410
20031	14395	14408	14395	14408
20032	14396	14411	14396	14411
20033	14397	14412	14397	14412
20034	14398	14413	14398	14413
20035	14399	14414	14399	14414
20036	14400	14415	14400	14415
20037	14401	14416	14401	14416
22639	8021	8022	16833	8022
23646	18509	14471	18519	14471
23649	18512	14415	18522	14415
23651	18524	14471	18519	14471
23656	18552	14471	18519	14471
23657	18553	14405	18520	14405
23658	18554	14411	18521	14411
23659	18555	14415	18522	14415
23660	18556	14416	18523	14416
23661	18557	14471	18519	14471
23662	18558	14405	18520	14405
23663	18559	14411	18521	14411
23664	18560	14415	18522	14415

23665	18561	14416	18523	14416
28683	20894	20897	20894	20897
28684	20894	20898	20894	20898
28685	20894	20899	20894	20899
28686	20894	20900	20894	20900
28687	20895	20897	20895	20897
28688	20895	20898	20895	20898
28689	20895	20899	20895	20899
28690	20895	20900	20895	20900
28691	20896	20897	20896	20897
28692	20896	20898	20896	20898
28693	20896	20899	20896	20899
28694	20896	20900	20896	20900
28695	20901	20905	20901	20905
28696	20901	20906	20901	20906
28697	20901	20907	20901	20907
28698	20901	20908	20901	20908
28699	20902	20905	20902	20905
28700	20902	20906	20902	20906
28701	20902	20907	20902	20907
28702	20902	20908	20902	20908
28703	20903	20905	20903	20905
28704	20903	20906	20903	20906
28705	20903	20907	20903	20907
28706	20903	20908	20903	20908
28707	20904	20905	20904	20905
28711	20904	20906	20904	20906
28712	20904	20907	20904	20907
28713	20904	20908	20904	20908

28717	21112	20891	21112	20891
28719	21112	20892	21112	20892
28720	21112	20893	21112	20893
28721	21113	20891	21113	20891
28722	21113	20892	21113	20892
28723	21113	20893	21113	20893
28724	21114	20891	21114	20891
28725	21114	20892	21114	20892
28726	21114	20893	21114	20893
28727	21115	20891	21115	20891
28728	21115	20892	21115	20892
28730	21115	20893	21115	20893
16675	10443	8022	8021	8022
16679	10445	8022	8021	8022
22630	16870	8022	8021	8022
22635	16840	8022	8021	8022
22636	16841	8022	8021	8022
22638	16843	8022	8021	8022
22329	16855	8022	16833	8022
22341	16861	8022	16839	8022
22345	16863	8022	16841	8022
22353	16866	8022	16870	8022

Tabela X1: Composição do Clone Variante

Variante	**H1 clone #**	**L1 clone #**	**H2 clone #**	**L2 clone #**	**L3 clone #**
31330	22776	20898	22777	20898	
31331	22775	20898	21709	20898	
31332	22776	20898	21709	20898	
31333	22776	20898	22782		

31334	22043	20898	22782		
31335	22776	20898	12153		
31354	22789	20898	21709	20898	
31362	22791*	20898	21709	20898	21663**
30035	21708	20891	21828		

*Cadeia pesada do terminal N ligada a uma cadeia leve do terminal C

**Este clone é um Fab de cadeia pesada. Deve emparelhar com a cadeia leve do terminal C do clone H1

Tabela Y: Sequências

SEQ ID NO:	**Descrição ou número do clone**	**Sequência**
70	4-1BB_Fc humano	GLQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDI CRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQ DCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDG KSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAREPGHS PQDIEGRMDPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGG HHHHHHHHHH
79	polipeptídeo 4-1BB humano (No. de Acessão Uniprot Q07011)	MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCDNNR NQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSN AECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCF GTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSP ADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFL TLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPE

		EEEGGCEL
80	polipeptídeo FRα humano (No. de Acessão UniProt P15328)	MAQRMTTQLLLLLVWVAVVGEAQTRIAWARTELLNVCM NAKHHKEKPGPEDKLHEQCRPWRKNACCSTNTSQEAHKD VSYLYRFNWNHCGEMAPACKRHFIQDTCLYECSPNLGPWI QQVDQSWRKERVLNVPLCKEDCEQWWEDCRTSYTCKSN WHKGWNWTSGFNKCAVGAACQPFHFYFPTPTVLCNEIWT HSYKVSNYSRGSGRCIQMWFDPAQGNPNEEVARFYAAAM SGAGPWAAWPFLLSLALMLLWLLS
81	polipeptídeo NaPi2b humano (No. de Acessão UniProt O95436)	MAPWPELGDAQPNPDKYLEGAAGQQPTAPDKSKETNKTD NTEAPVTKIELLPSYSTATLIDEPTEVDDPWNLPTLQDSGIK WSERDTKGKILCFFQGIGRLILLLGFLYFFVCSLDILSSAFQL VGGKMAGQFFSNSSIMSNPLLGLVIGVLVTVLVQSSSTSTSI VVSMVSSSLLTVRAAIPIIMGANIGTSITNTIVALMQVGDRS EFRRAFAGATVHDFFNWLSVLVLLPVEVATHYLEIITQLIVE SFHFKNGEDAPDLLKVITKPFTKLIVQLDKKVISQIAMNDEK AKNKSLVKIWCKTFTNKTQINVTVPSTANCTSPSLCWTDGI QNWTMKNVTYKENIAKCQHIFVNFHLPDLAVGTILLILSLL VLCGCLIMIVKILGSVLKGQVATVIKKTINTDFPFPFAWLTG YLAILVGAGMTFIVQSSSVFTSALTPLIGIGVITIERAYPLTLG SNIGTTTTAILAALASPGNALRSSLQIALCHFFFNISGILLWY PIPFTRLPIRMAKGLGNISAKYRWFAVFYLIIFFFLIPLTVFGL SLAGWRVLVGVGVPVVFIIILVLCLRLLQSRCPRVLPKKLQ NWNFLPLWMRSLKPWDAVVSKFTGCFQMRCCCCCRVCCR ACCLLCDCPKCCRCSKCCEDLEEAQEGQDVPVKAPETFDNI TISREAQGEVPASDSKTECTAL
82	polipeptídeo HER2 humano (No. de Acessão UniProt	MELAALCRWGLLLALLPPGAASTQVCTGTDMKLRLPASPE THLDMLRHLYQGCQVVQGNLELTYLPTNASLSFLQDIQEV QGYVLIAHNQVRQVPLQRLRIVRGTQLFEDNYALAVLDNG DPLNNTTPVTGASPGGLRELQLRSLTEILKGGVLIQRNPQLC YQDTILWKDIFHKNNQLALTLIDTNRSRACHPCSPMCKGSR

	P04626)	CWGESSEDCQSLTRTVCAGGCARCKGPLPTDCCHEQCAAG CTGPKHSDCLACLHFNHSGICELHCPALVTYNTDTFESMPN PEGRYTFGASCVTACPYNYLSTDVGSCTLVCPLHNQEVTA EDGTQRCEKCSKPCARVCYGLGMEHLREVRAVTSANIQEF AGCKKIFGSLAFLPESFDGDPASNTAPLQPEQLQVFETLEEI TGYLYISAWPDSLPDLSVFQNLQVIRGRILHNGAYSLTLQG LGISWLGLRSLRELGSGLALIHHNTHLCFVHTVPWDQLFRN PHQALLHTANRPEDECVGEGLACHQLCARGHCWGPGPTQ CVNCSQFLRGQECVEECRVLQGLPREYVNARHCLPCHPEC QPQNGSVTCFGPEADQCVACAHYKDPPFCVARCPSGVKPD LSYMPIWKFPDEEGACQPCPINCTHSCVDLDDKGCPAEQRA SPLTSIISAVVGILLVVVLGVVFGILIKRRQQKIRKYTMRRLL QETELVEPLTPSGAMPNQAQMRILKETELRKVKVLGSGAF GTVYKGIWIPDGENVKIPVAIKVLRENTSPKANKEILDEAY VMAGVGSPYVSRLLGICLTSTVQLVTQLMPYGCLLDHVRE NRGRLGSQDLLNWCMQIAKGMSYLEDVRLVHRDLAARNV LVKSPNHVKITDFGLARLLDIDETEYHADGGKVPIKWMAL ESILRRRFTHQSDVWSYGVTVWELMTFGAKPYDGIPAREIP DLLEKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDSECRPRFRELV SEFSRMARDPQRFVVIQNEDLGPASPLDSTFYRSLLEDDDM GDLVDAEEYLVPQQGFFCPDPAPGAGGMVHHRHRSSSTRS GGGDLTLGLEPSEEEAPRSPLAPSEGAGSDVFDGDLGMGA AKGLQSLPTHDPSPLQRYSEDPTVPLPSETDGYVAPLTCSPQ PEYVNQPDVRPQPPSPREGPLPAARPAGATLERPKTLSPGK NGVVKDVFAFGGAVENPEYLTPQGGAAPQPHPPPAFSPAF DNLYYWDQDPPERGAPPSTFKGTPTAENPEYLGLDVPV
83	polipeptídeo LIV-1 humano (No. de Acessão	MARKLSVILILTFALSVTNPLHELKAAAFPQTTEKISPNWES GINVDLAISTRQYHLQQLFYRYGENNSLSVEGFRKLLQNIGI DKIKRIHIHHDHDHHSDHEHHSDHERHSDHEHHSEHEHHS DHDHHSHHNHAASGKNKRKALCPDHDSDSSGKDPRNSQG

	UniProt Q13433)	KGAHRPEHASGRRNVKDSVSASEVTSTVYNTVSEGTHFLE TIETPRPGKLFPKDVSSSTPPSVTSKSRVSRLAGRKTNESVSE PRKGFMYSRNTNENPQECFNASKLLTSHGMGIQVPLNATEF NYLCPAIINQIDARSCLIHTSEKKAEIPPKTYSLQIAWVGGFI AISIISFLSLLGVILVPLMNRVFFKFLLSFLVALAVGTLSGDA FLHLLPHSHASHHHSHSHEEPAMEMKRGPLFSHLSSQNIEE SAYFDSTWKGLTALGGLYFMFLVEHVLTLIKQFKDKKKKN QKKPENDDDVEIKKQLSKYESQLSTNEEKVDTDDRTEGYL RADSQEPSHFDSQQPAVLEEEEVMIAHAHPQEVYNEYVPR GCKNKCHSHFHDTLGQSDDLIHHHHDYHHILHHHHHQNH HPHSHSQRYSREELKDAGVATLAWMVIMGDGLHNFSDGL AIGAAFTEGLSSGLSTSVAVFCHELPHELGDFAVLLKAGMT VKQAVLYNALSAMLAYLGMATGIFIGHYAENVSMWIFALT AGLFMYVALVDMVPEMLHNDASDHGCSRWGYFFLQNAG MLLGFGIMLLISIFEHKIVFRINF
84	Polipeptídeo de mesotelina (No. de Acessão UniProt Q13421)	MALPTARPLLGSCGTPALGSLLFLLFSLGWVQPSRTLAGET GQEAAPLDGVLANPPNISSLSPRQLLGFPCAEVSGLSTERVR ELAVALAQKNVKLSTEQLRCLAHRLSEPPEDLDALPLDLLL FLNPDAFSGPQACTRFFSRITKANVDLLPRGAPERQRLLPAA LACWGVRGSLLSEADVRALGGLACDLPGRFVAESAEVLLP RLVSCPGPLDQDQQEAARAALQGGGPPYGPPSTWSVSTMD ALRGLLPVLGQPIIRSIPQGIVAAWRQRSSRDPSWRQPERTIL RPRFRREVEKTACPSGKKAREIDESLIFYKKWELEACVDAA LLATQMDRVNAIPFTYEQLDVLKHKLDELYPQGYPESVIQH LGYLFLKMSPEDIRKWNVTSLETLKALLEVNKGHEMSPQA PRRPLPQVATLIDRFVKGRGQLDKDTLDTLTAFYPGYLCSL SPEELSSVPPSSIWAVRPQDLDTCDPRQLDVLYPKARLAFQ NMNGSEYFVKIQSFLGGAPTEDLKALSQQNVSMDLATFMK LRTDAVLPLTVAEVQKLLGPHVEGLKAEERHRPVRDWILR QRQDDLDTLGLGLQGGIPNGYLVLDLSMQEALSGTPCLLG

		PGPVLTVLALLLASTLA
86	13401	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTY TCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SLGKGGGGSGGGGSGGGGSQDSTSDLIPAPPLSKVPLQQNF QDNQFHGKWYVVGQAGNIRLREDKDPIKMMATIYELKED KSYDVTMVKFDDKKCMYDIWTFVPGSQPGEFTLGKIKSFP GHTSSLVRVVSTNYNQHAMVFFKFVFQNREEFYITLYGRT KELTSELKENFIRFSKSLGLPENHIVFPVPIDQCIDG
87	13401	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCA GCCCGGCGGCTCTCTGCGGCTGAGCTGCGCCGCCTCCGG CTTTAACATCAAGGACACATACATCCACTGGGTGCGGCA GGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCCAGAATCT ATCCTACCAATGGCTACACACGGTATGCCGACTCCGTGA AGGGCAGATTCACCATCTCTGCCGATACCAGCAAGAACA CAGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGAT ACAGCCGTGTACTATTGTTCTCGCTGGGGCGGCGACGGC TTTTACGCCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTG ACAGTGAGCTCCGCTAGCACAAAAGGACCCTCTGTCTTT CCACTGGCACCCTGCTCACGATCAACCTCTGAATCAACC GCCGCTCTGGGATGTCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAG CCTGTGACCGTGTCTTGGAACAGCGGGGCCCTGACCAGC

		GGAGTGCACACCTTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGC CTGTACTCTCTGTCTAGCGTGGTGACAGTGCCTTCCTCTA GCCTGGGCACCAAGACATATACCTGCAACGTGGACCACA AGCCAAGCAATACCAAGGTCGACAAGCGGGTGGAGTCC AAGTACGGACCACCTTGCCCACCATGTCCGGCGCCAGAG GCCGCCGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCTCCAAAG CCAAAGGACACACTGATGATCAGCAGAACACCAGAGGT GACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGA GGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTTTAATA GCACATACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACC AGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTG TCTAATAAGGGCCTGCCTTCCTCTATCGAGAAGACAATC AGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTA CACCCTGCCCCCTTCTCAGGAGGAGATGACAAAGAACCA GGTGAGCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGA GAACAATTACAAGACCACACCACCCGTGCTGGACTCCGA TGGCTCTTTCTTTCTGTATTCTAGGCTGACAGTGGATAAG AGCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTTTCTTGCAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGTCC CTGAGCTTAAGCCTGGGCAAGGGAGGAGGAGGCAGCGG CGGAGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTCAGGACTCCA CCTCTGATCTGATCCCAGCCCCTCCACTGTCCAAGGTGCC CCTGCAGCAGAACTTCCAGGACAATCAGTTTCACGGCAA GTGGTACGTGGTGGGCCAGGCCGGAAACATCCGGCTGA GAGAGGACAAGGACCCCATCAAGATGATGGCCACAATC TACGAGCTGAAGGAGGACAAGAGCTATGATGTGACCAT GGTGAAGTTCGACGATAAGAAGTGTATGTACGATATCTG GACATTTGTGCCAGGCTCCCAGCCTGGAGAGTTCACCCT

		GGGCAAGATCAAGTCTTTTCCTGGCCACACAAGCTCCCT GGTGAGGGTGGTGTCCACCAACTATAATCAGCACGCCAT GGTGTTCTTTAAGTTCGTGTTTCAGAACAGGGAGGAGTT CTACATCACCCTGTATGGCCGCACAAAGGAGCTGACCAG CGAGCTGAAGGAGAATTTCATCCGCTTTAGCAAGTCCCT GGGGCTGCCAGAGAACCACATTGTCTTTCCAGTGCCTAT TGACCAGTGTATTGATGGG
88	14385	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWVRQSP GKGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFISRLSISKDNSKSQVFFKM NSLQADDTAIYYCARENYDYDEFAYWGQGTLVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
89	14385	CAGGTGCAGCTGAAGCAGAGCGGCCCCGGCCTGGTGCA GCCTAGCCAGTCCCTGTCTATCACCTGCACAGTGTCCGG CTTCTCTCTGACCAGCTACGGAGTGCACTGGGTGCGGCA GTCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTG GAGGGGAGGCTCCACAGACTATAACGCCGCCTTTATCTC TAGACTGAGCATCTCCAAGGATAACTCTAAGAGCCAGGT GTTCTTTAAGATGAACAGCCTGCAGGCCGACGATACAGC CATCTACTATTGTGCCAGGGAGAATTACGACTATGATGA GTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTC CGCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGC CCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCT GGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGAC

		CGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCA CACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTC CCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTA CACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCA GGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGA GAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGA TGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAA ATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGT GATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGA GCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
90	14386	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTTYAISWVRQPPG KGLEWLGIIWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSRSQVFLKMN SLQTDDTARYYCARGAGTWYFDVWGAGTTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN

		AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
91	14386	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCCGGACCAGGACTGGTGGC CCCCTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTTTCCCTGACCACATACGCAATCTCTTGGGTGCGGCA GCCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGAATCATCTG GCCAGGAGGAGGCACAAACTATAATTCTGCCCTGAAGA GCAGGCTGTCTATCAGCAAGGACAACTCCCGCTCTCAGG TGTTCCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGATACAG CAAGGTACTATTGTGCCCGGGGGGCAGGGACCTGGTACT TTGACGTGTGGGGGGCAGGGACCACAGTGACAGTGAGC TCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCC CCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTG GGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACC GTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCAC ACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCC CTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC

		TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTA CACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCA GGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGA GAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGA TGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAA ATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGT GATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGA GCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
92	14387	EVQLVESGGGLVKPGGSRKLSCAASGFTFSEFGMHWVRQA PDKGLKWVAYISSGGSTIYYADTVKGRFTISRDNAKNTLFL QMTSLRSEDTAMYYCARDWVDYWGQGTTLTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
93	14387	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGAA GCCAGGAGGCAGCAGAAAGCTGTCCTGCGCAGCCTCTG GCTTCACCTTTAGCGAGTTTGGCATGCACTGGGTGAGAC AGGCCCCCGACAAGGGCCTGAAGTGGGTGGCCTACATC AGCTCCGGCGGCAGCACCATCTACTATGCCGACACAGTG AAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGATAACGCCAAGAAT ACACTGTTTCTGCAGATGACCTCCCTGAGGTCTGAGGAT ACAGCCATGTACTATTGTGCCCGCGACTGGGTGGATTAT TGGGGCCAGGGCACCACACTGACCGTGTCTAGCGCTAGC ACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCATCCTCTA

		AGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTGTCTGG TGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTCCTGGA ACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTTCCCG CCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCTAGCG TGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAGACAT ATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAATACAAAGG TCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATAAGACC CACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGCCGGA GGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAGGAC ACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGACATGCGTG GTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTT AACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAA GACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCTACCTATA GAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGC TGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAGCAATAAG GCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCC AAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACACTCTGCCT CCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGGTCAGTCTG ACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAGCGATATCGCT GTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGAGAACAATTA CAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCAGTTT CTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCACGATG GCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGATGCACGA AGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GTCTCCCGGC
94	14388	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQ KPGQGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTA YMELSSLTSEDSAVYYCARLGSRGTWFAYWGQGTLVTVS AASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI

		CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
95	14388	GAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGACCAGAGCTGGTGAA GCCTGGGGCCAGCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCAGCG GCTACACCTTCACATCCTATGTGATGCACTGGGTGAAGC AGAAGCCAGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCTACATC AACCCCTATAATGACGGCACCAAGTACAACGAGAAGTTT AAGGGCAAGGCCACCCTGACATCTGATAAGAGCTCCTCT ACCGCCTATATGGAGCTGAGCTCCCTGACATCTGAGGAC AGCGCCGTGTACTATTGTGCCCGGCTGGGCTCCAGAGGC ACATGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACA GTGTCTGCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCT CTGGCCCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCC GCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCA GTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGA GTGCACACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTG TACTCCCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCC TGGGCACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGC CTTCCAATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAG TCTTGTGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCG CCAGAGGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCA CCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCA GAGGTGACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGA CCCCGAGGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGA GGTGCACAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGT

		ACAATTCTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGT AAGGTGAGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAA GACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCAC AGGTGTACACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTA AGAACCAGGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCT ATCCCAGCGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCC AGCCTGAGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGG ACTCTGATGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGT CGATAAATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCT GTTCAGTGATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCC AGAAGAGCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
96	14389	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWVRQSP GKGLEWLGVIWSGGSTDYNAAFISRLSISKDNSKSQVFFKM NSLQADDTAIYYCARNPLTATVMDYWGQGTSVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
97	14389	CAGGTGCAGCTGAAGCAGTCCGGACCAGGACTGGTGCA GCCTTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTCTCCCTGACCTCTTACGGCGTGCACTGGGTGAGGCA GTCTCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTG GAGCGGAGGCTCCACAGACTATAACGCCGCCTTTATCTC TCGCCTGTCTATCAGCAAGGATAACTCCAAGTCTCAGGT GTTCTTTAAGATGAATAGCCTGCAGGCCGACGATACAGC

		CATCTACTATTGTGCCCGGAATCCCCTGACCGCCACAGT GATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGA GCTCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGG CCCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCC TGGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGA CCGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGC ACACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACT CCCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGG CACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTC CAATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTT GTGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAG AGGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCA AGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGG TGACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCG AGGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGC ACAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAAT TCTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCAC CAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGT GAGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCA TCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGT ACACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACC AGGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCA GCGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTG AGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTG ATGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATA AATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAG TGATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGA GCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
98	14390	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYPFTSYWMSWVKQ RPEQGLEWIGRIDPYDSETHYNQKFKDKAILTVDKSSSTAY

		MQLSSLTSEDSAVYYCARTYYGNYDAMDYWGQGTSVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
99	14390	CAGGTGCAGCTGCAGCAGCCAGGAGCCGAGCTGGTGCG CCCTGGGGCCAGCGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCCTCTGG CTACCCCTTCACCAGCTATTGGATGTCCTGGGTGAAGCA GCGGCCAGAGCAGGGACTGGAGTGGATCGGCAGAATCG ACCCCTACGATTCTGAGACACACTATAACCAGAAGTTTA AGGACAAGGCCATCCTGACCGTGGATAAGAGCTCCTCTA CAGCCTACATGCAGCTGAGCTCCCTGACCTCCGAGGACT CTGCCGTGTACTATTGTGCCAGGACATACTATGGCAATT ACGACGCCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCTCCGTGA CAGTGTCTAGCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTC CTCTGGCCCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAG CCGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGC CAGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCG GAGTGCACACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGAC TGTACTCCCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAG CCTGGGCACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAA GCCTTCCAATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAA AGTCTTGTGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGG CGCCAGAGGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTC CACCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCC

		CAGAGGTGACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAG GACCCCGAGGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTG GAGGTGCACAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCA GTACAATTCTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGT GCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGT GTAAGGTGAGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAG AAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACC ACAGGTGTACACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGAC TAAGAACCAGGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATT CTATCCCAGCGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGG CCAGCCTGAGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCT GGACTCTGATGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACC GTCGATAAATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAG CTGTTCAGTGATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACAC CCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
100	14391	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWINWVKQ RPGQGLEWIGNIYPSDNYTNYNQKFKDKATLTVDKSSSTA YMQLSSPTSEDSAVYYCTRGGGIYYENYFDYWGQGTTLTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
101	14391	CAGGTGCAGCTGCAGCAGCCAGGAGCCGAGCTGGTGAG ACCTGGGGCCAGCGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCCTCTGG CTACACCTTCACAAGCTATTGGATCAACTGGGTGAAGCA

		GAGGCCAGGACAGGGACTGGAGTGGATCGGCAACATCT ACCCCTCCGACAACTACACAAACTACAACCAGAAGTTTA AGGACAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCTCCTCTA CCGCCTATATGCAGCTGAGCTCCCCCACATCCGAGGACT CTGCCGTGTACTATTGTACCCGGGGCGGCGGCATCTACT ACGAGAACTACTTCGATTACTGGGGCCAGGGCACCACAC TGACAGTGTCTAGCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGT TTCCTCTGGCCCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAAC AGCCGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGA GCCAGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAG CGGAGTGCACACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGG ACTGTACTCCCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCT AGCCTGGGCACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCAC AAGCCTTCCAATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCC AAAGTCTTGTGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCC GGCGCCAGAGGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTT TCCACCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGAC CCCAGAGGTGACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGA GGACCCCGAGGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGT GGAGGTGCACAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGC AGTACAATTCTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAG TGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGT GTAAGGTGAGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAG AAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACC ACAGGTGTACACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGAC TAAGAACCAGGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATT CTATCCCAGCGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGG CCAGCCTGAGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCT GGACTCTGATGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACC GTCGATAAATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAG

		CTGTTCAGTGATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACAC CCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
102	14392	QVHLQQSGSELRIPGSSVKLSCKDFDSEVFPIAYMSWVRQK PGHGFEWIGDILPSIGRTIYGEKFEDKATLDADTVSNTAYLD LNSLTSEDSAIYYCSRGDYYYGSREYAMDYWGQGTSVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
103	14392	CAGGTGCACCTGCAGCAGTCCGGCTCTGAGCTGCGCATC CCTGGCAGCTCCGTGAAGCTGAGCTGCAAGGACTTCGAT TCCGAGGTGTTTCCCATCGCCTATATGTCCTGGGTGCGGC AGAAGCCTGGACACGGATTCGAGTGGATCGGCGACATC CTGCCCTCTATCGGCAGGACCATCTATGGCGAGAAGTTT GAGGATAAGGCCACACTGGACGCCGATACCGTGTCCAA CACAGCCTACCTGGACCTGAATAGCCTGACATCCGAGGA TTCTGCCATCTACTATTGTTCTCGGGGCGACTACTATTAC GGCAGCAGAGAGTATGCCATGGATTACTGGGGCCAGGG CACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGCTAGCACAAAGGGCCC CTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCATCCTCTAAGTCCACCTCT GGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGATTAC TTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGGGCC CTGACCAGCGGAGTGCACACATTTCCCGCCGTGCTGCAG AGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCTAGCGTGGTGACCGTG CCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAGACATATATCTGCAAC

		GTGAATCACAAGCCTTCCAATACAAAGGTCGACAAGAA GGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATAAGACCCACACATGCCC ACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGCCGGAGGACCAAGCG TGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGA TCTCCCGGACCCCAGAGGTGACATGCGTGGTGGTGAGCG TGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTTAACTGGTACG TGGATGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACAAAGCCC CGGGAGGAGCAGTACAATTCTACCTATAGAGTGGTGAGC GTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAG GAGTATAAGTGTAAGGTGAGCAATAAGGCCCTGCCAGC CCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGC CTCGCGAACCACAGGTGTACACTCTGCCTCCATCTCGGG ACGAGCTGACTAAGAACCAGGTCAGTCTGACCTGTCTGG TGAAAGGATTCTATCCCAGCGATATCGCTGTGGAGTGGG AATCCAATGGCCAGCCTGAGAACAATTACAAGACCACA CCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCAGTTTCTTTCTGTATA GTAAGCTGACCGTCGATAAATCACGATGGCAGCAGGGG AACGTGTTCAGCTGTTCAGTGATGCACGAAGCCCTGCAC AACCATTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
104	14393	QVQLQESGGGLVKPGGSRKLSCAASGFTFSEFGMHWVRQ APDKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVKGRFTISRDNAKNTLF LQMTSLRSEDTAMYYCARDWVDYWGQGTALTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

105	14393	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGAA GCCAGGAGGCTCTAGAAAGCTGAGCTGCGCCGCCTCCGG CTTCACCTTTAGCGAGTTTGGCATGCACTGGGTGAGACA GGCCCCCGACAAGGGACTGGAGTGGGTGGCCTACATCA GCTCCGGCTCTAGCACCATCTACTATGCCGACACAGTGA AGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGATAACGCCAAGAATA CACTGTTTCTGCAGATGACCAGCCTGAGGTCCGAGGATA CAGCCATGTACTATTGTGCCCGCGACTGGGTGGATTATT GGGGACAGGGAACCGCCCTGACAGTGTCCTCTGCTAGCA CAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCATCCTCTAA GTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTGTCTGGT GAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTCCTGGAA CTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTTCCCGC CGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCTAGCGT GGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAGACATA TATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAATACAAAGGT CGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATAAGACCC ACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGCCGGAG GACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGACATGCGTGG TGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTTA ACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAG ACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCTACCTATAG AGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCT GAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAGCAATAAGG CCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCA AGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACACTCTGCCTC CATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGGTCAGTCTGA CCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAGCGATATCGCTG TGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGAGAACAATTAC

		AAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCAGTTTC TTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCACGATGG CAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGATGCACGAA GCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTG TCTCCCGGC
106	14394	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWVRQSP GKGLEWLGVIWSGGSTDYNGAFISRLSISKDNSKSQVFFKM NSLQADDTAMYFCARDRGGGFDYWGQGTTLTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
107	14394	CAGGTGCAGCTGAAGCAGTCCGGCCCCGGCCTGGTGCAG CCTTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGGC TTCTCCCTGACCTCTTACGGAGTGCACTGGGTGCGGCAG TCTCCAGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTGG AGCGGAGGCTCCACAGACTATAACGGGGCCTTCATCTCT AGGCTGTCTATCAGCAAGGATAACTCCAAGTCTCAGGTG TTCTTTAAGATGAATAGCCTGCAGGCCGACGATACCGCC ATGTACTTCTGTGCCCGGGACAGAGGCGGCGGCTTTGAT TATTGGGGCCAGGGCACCACACTGACAGTGAGCTCCGCT AGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCATCC TCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTGT CTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTCC TGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTT CCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCT

		AGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAG ACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAATACA AAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATAA GACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGC CGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAA GGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGACATG CGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGA AGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATG CCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCTACC TATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGAT TGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAGCAA TAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAA GGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACACTCT GCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGGTCAG TCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAGCGATAT CGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGAGAACA ATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCA GTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCACG ATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGATGCA CGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGAGCCTGA GCCTGTCTCCCGGC
108	4667	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQM PGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVD HKPSNTKVDKTVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLL

		CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
109	4667	GAAGTCCAGCTGGTCCAGTCCGGAGCCGAGGTGAAGAA ACCCGGCGAATCACTGCGAATCAGCTGCAAGGGCAGCG GCTACAGCTTCTCCACTTATTGGATTAGCTGGGTGCGGC AGATGCCTGGGAAGGGACTGGAGTGGATGGGGAAAATC TACCCCGGAGATAGCTACACCAACTATTCTCCTAGTTTTC AGGGCCAAGTGACTATCTCCGCCGACAAGTCAATTAGCA CCGCTTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAAGCTAGCGATA CAGCAATGTACTATTGTGCCAGAGGCTACGGGATTTTCG ACTATTGGGGACAGGGCACTCTGGTCACCGTGTCTAGTG CTTCTACTAAGGGGCCCAGTGTGTTTCCACTGGCACCCT GCTCCAGGTCTACAAGTGAATCAACTGCCGCTCTGGGAT GTCTGGTGAAAGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGA GCTGGAACTCCGGCGCACTGACTTCTGGGGTCCACACCT TTCCTGCCGTGCTGCAGTCAAGCGGCCTGTACAGCCTGT CCTCTGTGGTCACCGTGCCAAGTTCAAATTTCGGGACCC AGACATATACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCTAATA CAAAGGTCGATAAAACTGTGGAACCAAAGAGTTGTGAC AAAACCCATACATGCCCCCCTTGTCCTGCACCAGAGCTG CTGGGAGGACCATCCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCC AAAGATACACTGATGATCAGCCGCACCCCAGAAGTCAC ATGCGTGGTCGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCCGAAGT CAAGTTTAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAA TGCTAAGACCAAACCACGGGAGGAACAGTACAATTCAA CCTATAGAGTCGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAGTATAAGTGCAAAGTGTCTA ATAAGGCACTGCCCGCCCCTATCGAGAAAACCATTAGCA AGGCCAAAGGGCAGCCTAGGGAACCACAGGTCTACGTG CTGCCTCCAAGCCGCGATGAGCTGACAAAGAACCAGGTC

		TCCCTGCTGTGTCTGGTGAAAGGGTTCTATCCCAGTGAC ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCTGAAAA CAATTACCTGACATGGCCCCCTGTGCTGGACTCTGATGG AAGTTTCTTTCTGTATTCCAAGCTGACTGTGGACAAATCT CGATGGCAGCAGGGCAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATG CATGAGGCCCTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCTCTG AGTCTGTCACCTGGC
110	14396	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYAINWVRQPPG KGLEWLGVLWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSKSQVFLKM NSLQTDDTARYYCARGSGTWYFDVWGAGTTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
111	14396	CAGGTGCAGCTGAAGGAGAGCGGACCAGGACTGGTGGC CCCCTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTTTCCCTGACCTCTTACGCCATCAACTGGGTGCGGCAG CCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGCTGTGG CCAGGAGGAGGCACAAACTATAATAGCGCCCTGAAGTC CAGGCTGTCTATCAGCAAGGACAACTCCAAGTCTCAGGT GTTCCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGATACAGC CCGGTACTATTGTGCCAGAGGCTCCGGCACCTGGTACTT TGACGTGTGGGGGGCAGGGACCACAGTGACAGTGAGCT CCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCC CATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGG GCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCG

		TGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACA CATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCT GTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCAC CCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAA TACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTG ATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGG CCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGA CATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGG TGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACA ATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCT ACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAG GATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAG CAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTC CAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACA CTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGG TCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAGCG ATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGAGA ACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATG GCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATC ACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGAT GCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGAGCCT GAGCCTGTCTCCCGGC
112	14397	QVQLQQPGAELVKPGASVMLSCKASGYTFTSYWMHWVK QRPGQGLEWIGEINLRNGGTNYYEKFKTRATLTVDKSSSTA YMQLSSLTSEDSAVYYCTILTSAPSYWGQGTLVTVSAASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH

		NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
113	14397	CAGGTGCAGCTGCAGCAGCCAGGAGCCGAGCTGGTGAA GCCTGGGGCCAGCGTGATGCTGTCCTGCAAGGCCTCTGG CTACACCTTCACAAGCTATTGGATGCACTGGGTGAAGCA GCGGCCTGGACAGGGACTGGAGTGGATCGGCGAGATCA ACCTGCGGAATGGCGGCACCAACTACTATGAGAAGTTTA AGACAAGAGCCACCCTGACAGTGGACAAGAGCTCCTCT ACCGCCTACATGCAGCTGAGCTCCCTGACATCTGAGGAT AGCGCCGTGTACTATTGTACCATCCTGACATCCGCCCCCT CTTATTGGGGACAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCCGCCG CTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCAT CCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCT GTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGT CCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACAT TTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTC TAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCA GACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAATAC AAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATA AGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCG CCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCA AGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGACAT GCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTG AAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAAT GCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCTAC CTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGA TTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAGCA ATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCCA

		AGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACACT CTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGGTC AGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAGCGAT ATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGAGAAC AATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGC AGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCAC GATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGATGC ACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGAGCCTG AGCCTGTCTCCCGGC
114	14398	QLQESGAELLRPGASVKLSCTASGFNIKDDYLHWVKQRPE QGLEWIGWIDPENGDTEYASKFQGKATIKADTSSNTAYLQ LSSLTSEDTAVYYCSTQGFACWGQGTLVTVSAASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
115	14398	CAGCTGCAGGAGTCTGGAGCCGAGCTGCTGAGACCCGG GGCCAGCGTGAAGCTGTCTTGCACAGCCAGCGGCTTCAA CATCAAGGACGATTACCTGCACTGGGTGAAGCAGAGAC CCGAGCAGGGACTGGAGTGGATCGGATGGATCGACCCT GAGAACGGCGATACCGAGTACGCCAGCAAGTTTCAGGG CAAGGCCACAATCAAGGCCGACACCAGCTCCAATACAG CCTATCTGCAGCTGTCTAGCCTGACCTCCGAGGATACAG CCGTGTACTATTGCTCTACCCAGGGATTCGCATGTTGGG GACAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCCGCCGCTAGCACAA AGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCATCCTCTAAGTC

		CACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTGTCTGGTGAA GGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTCCTGGAACTC TGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTTCCCGCCGT GCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCTAGCGTGGT GACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAATACAAAGGTCGA CAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATAAGACCCACA CATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGCCGGAGGAC CAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAGGACACCC TGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGACATGCGTGGTGG TGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTTAACT GGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACA AAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCTACCTATAGAGTG GTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAAC GGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAGCAATAAGGCCCT GCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGG GCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACACTCTGCCTCCAT CTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGGTCAGTCTGACCT GTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAGCGATATCGCTGTGG AGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGAGAACAATTACAAG ACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCAGTTTCTTTC TGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCACGATGGCAGC AGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGATGCACGAAGCCC TGCACAACCATTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCTC CCGGC
116	14399	EVKLVESEGGLVQPGSSMKLSCTASGFTFSDYYMAWVRQ VPEKGLEWVAHINYDGSGTYYLDSLKGRFIISRDNAKNILY LQMSSLKSEDTATYYCARDCYGSSSYAVDYWGQGTSVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI

		CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
117	14399	GAGGTGAAGCTGGTGGAGAGCGAGGGAGGACTGGTGCA GCCAGGCAGCTCCATGAAGCTGAGCTGCACCGCCTCCGG CTTCACATTTTCCGACTACTATATGGCATGGGTGCGGCA GGTGCCAGAGAAGGGACTGGAGTGGGTGGCCCACATCA ACTACGACGGCTCTGGCACATACTATCTGGATAGCCTGA AGGGCCGGTTTATCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAATA TCCTGTACCTGCAGATGTCTAGCCTGAAGTCTGAGGACA CCGCCACATACTATTGCGCCAGGGATTGTTATGGCTCCT CTAGCTACGCCGTGGATTATTGGGGCCAGGGCACCTCTG TGACAGTGTCCTCTGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGT TTCCTCTGGCCCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAAC AGCCGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGA GCCAGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAG CGGAGTGCACACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGG ACTGTACTCCCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCT AGCCTGGGCACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCAC AAGCCTTCCAATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCC AAAGTCTTGTGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCC GGCGCCAGAGGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTT TCCACCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGAC CCCAGAGGTGACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGA GGACCCCGAGGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGT GGAGGTGCACAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGC

		AGTACAATTCTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAG TGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGT GTAAGGTGAGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAG AAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACC ACAGGTGTACACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGAC TAAGAACCAGGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATT CTATCCCAGCGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGG CCAGCCTGAGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCT GGACTCTGATGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACC GTCGATAAATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAG CTGTTCAGTGATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACAC CCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
118	14400	QVQLQESGPGLVQPTQSLSITCTVSGFSLISYGVHWVRQSP GKGLEWLGVIWSGGSTDYNAAFISRLSISKDNSKSQVFFKM NSLQADDTAIYYCARNPLTATVMDYWGQGTSVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
119	14400	CAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGACCAGGACTGGTGCA GCCTACACAGTCTCTGAGCATCACCTGCACAGTGTCTGG CTTCAGCCTGATCTCCTACGGAGTGCACTGGGTGAGGCA GTCCCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTG GTCTGGCGGCAGCACCGACTATAACGCCGCCTTTATCTC CCGCCTGTCCATCTCTAAGGATAACAGCAAGTCCCAGGT GTTCTTTAAGATGAACAGCCTGCAGGCCGACGATACAGC

		CATCTACTATTGTGCCCGGAATCCCCTGACCGCCACAGT GATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCTCTGTGACAGTGAG CTCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGC CCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCT GGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGAC CGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCA CACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTC CCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTA CACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCA GGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGA GAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGA TGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAA ATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGT GATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGA GCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
120	14401	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYAISWVRQPPG KGLEWLGVIWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSKSQVFLKM

		NSLQTDDTARYYCARGTGTWYFDVWGAGTTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
121	14401	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCTGGACCAGGACTGGTGGC CCCCTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTTTCCCTGACCTCTTACGCAATCTCCTGGGTGCGGCAG CCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTGG CCAGGAGGAGGCACAAACTATAATAGCGCCCTGAAGTC CAGGCTGTCTATCAGCAAGGACAACTCCAAGTCTCAGGT GTTCCTGAAGATGAATAGCCTGCAGACCGACGATACAGC CCGGTACTATTGTGCCAGAGGCACCGGCACATGGTACTT TGACGTGTGGGGGGCAGGGACCACAGTGACAGTGAGCT CCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCC CATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGG GCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCG TGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACA CATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCT GTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCAC CCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAA TACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTG ATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGG CCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGA CATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGG

		TGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACA ATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCT ACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAG GATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAG CAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTC CAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACA CTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGG TCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAGCG ATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGAGA ACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATG GCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATC ACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGAT GCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGAGCCT GAGCCTGTCTCCCGGC
122	14402	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWY LQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSARGSGTDFSLKISRV EAEDLGVYYCFQGSHVPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
123	14402	GACGTGGTCATGACCCAGACACCCCTGTCCCTGCCCGTG AGCCTGGGCGACCAGGCCTCTATCAGCTGCAGGAGCTCC CAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAATACCTACCTGGAG TGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCCAAGCTGCTG ATCTACAAGGTGTCTAACCGGTTCAGCGGAGTGCCAGAC CGGTTTTCCGCCAGAGGCTCTGGCACAGACTTCAGCCTG AAGATCTCCAGAGTGGAGGCCGAGGACCTGGGCGTGTA CTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCTTATACCTTTGGC GGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACAGTGGCGGC GCCCAGTGTCTTCATTTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTG

		AAGTCTGGGACAGCCAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAAC TTCTACCCTAGAGAGGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGAT AACGCACTGCAGTCCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACT GAACAGGACTCAAAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGC ACACTGACTCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAA AGTGTATGCTTGTGAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTC ACCAGTCACAAAATCATTCAACAGAGGGGAGTGC
124	14404	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGTAVGWYQQK LGQSPKLLIYWASTRRTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSE DLADYFCQQYSSYPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
125	14404	GACATCGTGATGACCCAGAGCCACAAGTTTATGTCTACA AGCGTGGGCGACCGCGTGTCTATCACCTGCAAGGCCAGC CAGGATGTGGGAACAGCCGTGGGCTGGTACCAGCAGAA GCTGGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATTGGGCCTC TACCCGGAGAACAGGAGTGCCTGACCGGTTCACCGGCTC CGGCTCTGGCACAGACTTCACCCTGACAATCAGCAACGT GCAGTCCGAGGACCTGGCCGATTACTTCTGTCAGCAGTA CAGCTCCTATCCCCTGACCTTCGGGGCAGGGACAAAGCT GGAGCTGAAGAGGACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCAT TTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGC CAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGA GGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGT CCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCA AAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTG AGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGT GAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAA ATCATTCAACAGAGGGGAGTGC

126	14405	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQK PGQSRTVLIYSASYRHSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSE DLAEYFCQQYNSYPLTFGTGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
127	14405	GACATCGTGATGACCCAGAGCCAGAAGTTTATGAGCACA TCCGTGGGCGATCGCGTGTCTGTGACCTGCAAGGCCAGC CAGAACGTGGGCACAAATGTGGCCTGGTACCAGCAGAA GCCAGGCCAGTCCCGGACAGTGCTGATCTACTCTGCCAG CTATCGGCACTCTGGAGTGCCAGACAGATTCACCGGCTC CGGCTCTGGCACAGACTTCACCCTGACAATCAGCAACGT GCAGTCCGAGGACCTGGCCGAGTATTTCTGTCAGCAGTA CAATTCCTATCCCCTGACCTTTGGCACCGGCACAAAGCT GGAGCTGAAGAGGACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCAT TTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGC CAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGA GGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGT CCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCA AAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTG AGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGT GAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAA ATCATTCAACAGAGGGGAGTGC
128	14406	DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLLHSYGITYLYWYL QKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVE AEDVGVYYCAQNLELPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
129	14406	GACATCGTGATGACACAGGCCGCCTTTTCTAACCCCGTG

		ACCCTGGGCACATCTGCCAGCATCTCCTGCCGGAGCTCC AAGTCTCTGCTGCACAGCTATGGCATCACCTACCTGTATT GGTACCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCTCAGCTGCTGA TCTACCAGATGTCCAACCTGGCCTCTGGCGTGCCTGACA GGTTCTCTAGCTCCGGCAGCGGAACCGACTTCACCCTGC GGATCTCCAGAGTGGAGGCCGAGGATGTGGGCGTGTACT ATTGTGCCCAGAATCTGGAGCTGCCACTGACCTTCGGGG CAGGGACAAAGCTGGAGCTGAAGCGGACAGTGGCGGCG CCCAGTGTCTTCATTTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGA AGTCTGGGACAGCCAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACT TCTACCCTAGAGAGGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATA ACGCACTGCAGTCCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTG AACAGGACTCAAAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCA CACTGACTCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAA GTGTATGCTTGTGAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCA CCAGTCACAAAATCATTCAACAGAGGGGAGTGC
130	14407	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSG TSPKRWVYDTSKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAED VATYYCQQWSSNPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
131	14407	CAGATCGTGCTGACACAGAGCCCAGCCATCATGTCCGCC TCTCCAGGAGAGAAGGTGACCATGACATGCAGCGCCAG CTCCAGCGTGAGCTACATGCACTGGTATCAGCAGAAGTC TGGCACCAGCCCTAAGCGGTGGGTGTACGACACATCCAA GCTGGCCTCTGGAGTGCCAGCCAGATTCAGCGGCTCCGG CTCTGGCACCAGCTATTCCCTGACAATCAGCTCCATGGA GGCCGAGGATGTGGCCACCTACTATTGTCAGCAGTGGTC TAGCAACCCCCCTACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGA

		GATCAAGCGGACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCATTTT TCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGCCAG TGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGAGGC TAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCCG GAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCAAAA GATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTGAGC AAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGA AGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATC ATTCAACAGAGGGGAGTGC
132	14408	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHW YLQKPGQSPKLLIYKVSNRFFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDLGVYFCSQTTYVPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
133	14408	GACGTGGTCATGACCCAGACACCCCTGTCCCTGCCCGTG AGCCTGGGCGACCAGGCCTCTATCAGCTGCCGGAGCTCC CAGAGCCTGGTGCACTCCAACGGCAATACATACCTGCAC TGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCCAAGCTGCTG ATCTACAAGGTGAGCAACCGGTTCTTTGGCGTGCCCGAC AGATTCTCCGGCTCTGGCAGCGGAACCGACTTCACCCTG AAGATCTCCCGGGTGGAGGCAGAGGACCTGGGCGTGTA CTTCTGTTCTCAGACCACATATGTGCCTCTGACCTTCGGG GCAGGGACAAAGCTGGAGCTGAAGAGGACCGTGGCGGC GCCCAGTGTCTTCATTTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTG AAGTCTGGGACAGCCAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAAC TTCTACCCTAGAGAGGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGAT AACGCACTGCAGTCCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACT GAACAGGACTCAAAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGC ACACTGACTCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAA

		AGTGTATGCTTGTGAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTC ACCAGTCACAAAATCATTCAACAGAGGGGAGTGC
134	14409	NIVMTQSPKSMSMSVGERVTLSCKASENVGSYVSWYQQKP EKSPKLLIYGASNRYTGVPDRFTGSGSATDFTLTISSVQAED LADYHCGQSYSYPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
135	14409	AACATCGTGATGACCCAGTCCCCCAAGTCTATGAGCATG TCCGTGGGCGAGCGCGTGACACTGTCTTGCAAGGCCAGC GAGAACGTGGGCAGCTACGTGTCCTGGTATCAGCAGAA GCCCGAGAAGTCCCCTAAGCTGCTGATCTACGGGGCCAG CAATCGGTATACCGGCGTGCCTGACAGATTCACCGGCTC TGGCAGCGCCACAGACTTCACCCTGACAATCAGCTCCGT GCAGGCAGAGGACCTGGCAGATTACCACTGTGGCCAGTC CTACTCTTATCCACTGACCTTCGGGGCAGGGACAAAGCT GGAGCTGAAGAGGACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCAT TTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGC CAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGA GGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGT CCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCA AAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTG AGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGT GAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAA ATCATTCAACAGAGGGGAGTGC
136	14410	DIVMTQSPSSLAVTAGEKVTMRCKSSQSLLWSVNQNNYLS WYQQKQGQPPKLLIYGASIRESWVPDRFTGSGSGTDFTLTI SNVHAEDLAVYYCQHNHGSFLPYTFGGGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE

		VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
137	14410	GACATCGTGATGACACAGAGCCCAAGCTCCCTGGCCGTG ACCGCCGGGGAGAAGGTGACAATGCGGTGCAAGTCTAG CCAGAGCCTGCTGTGGTCCGTGAACCAGAACAATTACCT GTCCTGGTATCAGCAGAAGCAGGGCCAGCCCCCTAAGCT GCTGATCTACGGGGCCAGCATCCGGGAGAGCTGGGTGCC TGACAGATTCACCGGCTCCGGCTCTGGCACAGACTTCAC CCTGACAATCTCCAACGTGCACGCCGAGGATCTGGCCGT GTACTATTGTCAGCACAATCACGGCTCTTTCCTGCCATAT ACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGGAC CGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCATTTTTCCCCCTAGCGAC GAACAGCTGAAGTCTGGGACAGCCAGTGTGGTCTGTCTG CTGAACAACTTCTACCCTAGAGAGGCTAAAGTGCAGTGG AAGGTCGATAACGCACTGCAGTCCGGAAATTCTCAGGAG AGTGTGACTGAACAGGACTCAAAAGATAGCACCTATTCC CTGTCAAGCACACTGACTCTGAGCAAGGCCGACTACGAG AAGCATAAAGTGTATGCTTGTGAAGTCACCCACCAGGGG CTGAGTTCACCAGTCACAAAATCATTCAACAGAGGGGAG TGC
138	14411	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTFSCSASQGISNYLNWYQQKPD GTVKLLIYYTSSLHLGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEPEDIA TYYCQQYSKLPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
139	14411	GACATCCAGATGACCCAGACCACAAGCTCCCTGTCCGCC TCTCTGGGCGATAGAGTGACCTTCAGCTGCTCCGCCTCTC AGGGCATCTCTAACTACCTGAATTGGTATCAGCAGAAGC CTGACGGCACCGTGAAGCTGCTGATCTACTATACATCTA GCCTGCACCTGGGCGTGCCATCCAGGTTCAGCGGCTCCG

		GCTCTGGAACCGACTACAGCCTGACAATCTCCAACCTGG AGCCCGAGGATATCGCCACCTACTATTGTCAGCAGTATA GCAAGCTGCCTTGGACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGG AGATCAAGCGCACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCATTT TTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGCCA GTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGAGG CTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCCG GAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCAAAA GATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTGAGC AAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGA AGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATC ATTCAACAGAGGGGAGTGC
140	14412	NIVMTQSPKSMSMSVGERVTLSCKASDNVGISVSWYQQKP EQSPKLLIYGASNRYTGVPDRFTGTGSATDFTLTISSVQAED LADYHCGQSYSYPFTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
141	14412	AACATCGTGATGACCCAGTCCCCCAAGTCTATGAGCATG TCCGTGGGCGAGCGCGTGACACTGAGCTGCAAGGCCTCC GACAACGTGGGCATCTCTGTGAGCTGGTACCAGCAGAAG CCCGAGCAGTCTCCTAAGCTGCTGATCTACGGGGCCAGC AATCGGTATACCGGCGTGCCTGACAGATTCACCGGCACA GGCTCCGCCACAGACTTCACCCTGACAATCAGCTCCGTG CAGGCAGAGGACCTGGCAGATTATCACTGTGGCCAGTCC TACTCTTATCCATTCACCTTTGGCTCTGGCACAAAGCTGG AGATCAAGAGGACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCATTT TTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGCCA GTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGAGG CTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCCG

		GAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCAAAA GATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTGAGC AAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGA AGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATC ATTCAACAGAGGGGAGTGC
142	18509	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTTYAISWVRQPPG KGLEWLGIIWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSRSQVFLKMN SLQTDDTARYYCARGAGTWYFDVWGAGTTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGQEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCTASKFSFSSLYYMCW VRQAPGKGLEWIACVYGGSSGNTYYASWAKGRFTISKASS TTVTLQLTSLTAADTATYFCARFDVDGSGFNLWGPGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPSSVSAAVGGTVTIK CQASQTIGSSLAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVSSRFR GSGSGTEYTLTISDLECADAATYYCQWTDYGYIYIWAFGG GTEVVVK
143	18509	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCCGGACCAGGACTGGTGGC CCCCTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTTTCCCTGACCACATACGCAATCTCTTGGGTGCGGCA GCCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGAATCATCTG GCCAGGAGGAGGCACAAACTATAATTCTGCCCTGAAGA GCAGGCTGTCTATCAGCAAGGACAACTCCCGCTCTCAGG TGTTCCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGATACAG

		CAAGGTACTATTGTGCCCGGGGGGCAGGGACCTGGTACT TTGACGTGTGGGGGGCAGGGACCACAGTGACAGTGAGC TCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCC CCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTG GGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACC GTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCAC ACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCC CTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTAC GTGTATCCCCCTAGCAGAGACGAGCTGACAAAGAACCA GGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTCT GATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGA GAACAATTACAAGACCACACCACCCGTGCTGGACAGCG ATGGCTCCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACAGTGGACA AGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCG TGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTATACCCAGAAGT CCCTGTCTCTGAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGACAGGAG CAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCAGA GGGCTCCCTGACCCTGACATGCACCGCCTCTAAGTTCAG

		CTTTAGCTCCCTGTACTATATGTGCTGGGTGAGGCAGGC CCCCGGCAAGGGACTGGAGTGGATCGCCTGCGTGTATGG CGGCTCTAGCGGCAACACCTACTATGCCTCCTGGGCCAA GGGCCGCTTCACAATCTCTAAGGCCTCCTCTACCACAGT GACCCTGCAGCTGACAAGCCTGACCGCCGCCGACACAGC CACCTACTTCTGTGCCCGGTTTGACGTGGATGGCTCCGG CTTTAATCTGTGGGGCCCTGGCACACTGGTGACCGTGAG CTCCGGAGGAGGAGGCAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGCG GCGGCGGCTCTGATATCGTGATGACACAGACCCCATCTA GCGTGAGCGCCGCCGTGGGAGGCACAGTGACCATCAAG TGCCAGGCCTCCCAGACCATCGGCTCCTCTCTGGCCTGG TATCAGCAGAAGCCTGGCCAGCCTCCAAAGCTGCTGATC TACAGAGCCTCCACACTGGCCTCTGGCGTGAGCTCCCGG TTCAGAGGCTCCGGCTCTGGAACCGAGTACACACTGACC ATCAGCGACCTGGAGTGCGCAGATGCAGCAACATACTAT TGTCAGTGGACCGATTACGGCTATATCTACATCTGGGCC TTTGGCGGAGGAACCGAGGTGGTGGTGAAG
144	14414	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWY LQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRV EAEDLGVYYCFQGSHVPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
145	14414	GACGTGCTGATGACCCAGACACCCCTGTCCCTGCCCGTG AGCCTGGGCGACCAGGCCTCTATCAGCTGCCGGAGCTCC CAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAATACATACCTGGAG TGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTG ATCTACAAGGTGTCTAACCGGTTCAGCGGCGTGCCCGAC AGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGAACCGACTTCACCCTG AAGATCTCCCGGGTGGAGGCAGAGGACCTGGGCGTGTA

		CTATTGTTTCCAGGGCTCTCACGTGCCTTGGACCTTTGGC GGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGGACCGTGGCGGC GCCCAGTGTCTTCATTTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTG AAGTCTGGGACAGCCAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAAC TTCTACCCTAGAGAGGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGAT AACGCACTGCAGTCCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACT GAACAGGACTCAAAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGC ACACTGACTCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAA AGTGTATGCTTGTGAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTC ACCAGTCACAAAATCATTCAACAGAGGGGAGTGC
146	14415	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQK PGQSPKALIYSASYRDSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSE DLAEYLCQQYNSYPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
147	14415	GACATCGTGATGACCCAGAGCCAGAAGTTTATGAGCACA TCCGTGGGCGATCGCGTGTCTGTGACCTGCAAGGCCAGC CAGAACGTGGGCACAAATGTGGCCTGGTACCAGCAGAA GCCCGGCCAGTCCCCTAAGGCCCTGATCTACTCTGCCAG CTATCGGGACTCTGGCGTGCCTGATAGATTCACCGGCTC CGGCTCTGGCACAGACTTTACCCTGACAATCAGCAACGT GCAGTCCGAGGATCTGGCCGAGTACCTGTGCCAGCAGTA CAATTCCTATCCCCTGACCTTCGGGGCAGGGACAAAGCT GGAGCTGAAGAGGACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCAT TTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGC CAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGA GGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGT CCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCA AAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTG

		AGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGT GAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAA ATCATTCAACAGAGGGGAGTGC
148	14416	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQKPD GTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEPEDIA TYYCQQYSDLPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
149	14416	GACATCCAGATGACCCAGACCACAAGCTCCCTGTCCGCC TCTCTGGGCGATAGAGTGACAATCAGCTGCTCCGCCTCT CAGGGCATCTCCAACTACCTGAATTGGTATCAGCAGAAG CCTGACGGCACCGTGAAGCTGCTGATCTACTATACATCT AGCCTGCACAGCGGAGTGCCATCCAGGTTCAGCGGCTCC GGCTCTGGAACCGATTACTCTCTGACAATCAGCAACCTG GAGCCCGAGGACATCGCCACCTACTATTGTCAGCAGTAT TCTGATCTGCCTTGGACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTG GAGATCAAGCGCACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCATT TTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGCC AGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGAG GCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCC GGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCAAA AGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTGAG CAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGA AGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATC ATTCAACAGAGGGGAGTGC
150	18519	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTTYAISWVRQPPG KGLEWLGIIWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSRSQVFLKMN SLQTDDTARYYCARGAGTWYFDVWGAGTTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL

		TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
151	18519	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCCGGACCAGGACTGGTGGC CCCCTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTTTCCCTGACCACATACGCAATCTCTTGGGTGCGGCA GCCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGAATCATCTG GCCAGGAGGAGGCACAAACTATAATTCTGCCCTGAAGA GCAGGCTGTCTATCAGCAAGGACAACTCCCGCTCTCAGG TGTTCCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGATACAG CAAGGTACTATTGTGCCCGGGGGGCAGGGACCTGGTACT TTGACGTGTGGGGGGCAGGGACCACAGTGACAGTGAGC TCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCC CCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTG GGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACC GTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCAC ACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCC CTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT

		CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTCTAC GTGCTGCCCCCTAGCCGCGACGAACTGACTAAAAATCAG GTCTCTCTGCTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGTAACGGCCAGCCCGAG AACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTGAT GGGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTCGATAAA AGCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTCAGCTGCTCCGTC ATGCACGAAGCACTGCACAACCATTACACTCAGAAGTCC CTGTCCCTGTCACCTGGC
152	18520	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWVRQSP GKGLEWLGVIWSGGSTDYNAAFISRLSISKDNSKSQVFFKM NSLQADDTAIYYCARNPLTATVMDYWGQGTSVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLL CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
153	18520	CAGGTGCAGCTGAAGCAGTCCGGACCAGGACTGGTGCA GCCTTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTCTCCCTGACCTCTTACGGCGTGCACTGGGTGAGGCA GTCTCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTG GAGCGGAGGCTCCACAGACTATAACGCCGCCTTTATCTC TCGCCTGTCTATCAGCAAGGATAACTCCAAGTCTCAGGT GTTCTTTAAGATGAATAGCCTGCAGGCCGACGATACAGC

		CATCTACTATTGTGCCCGGAATCCCCTGACCGCCACAGT GATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGA GCTCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGG CCCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCC TGGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGA CCGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGC ACACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACT CCCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGG CACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTC CAATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTT GTGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAG AGGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCA AGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGG TGACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCG AGGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGC ACAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAAT TCTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCAC CAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGT GAGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCA TCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTCT ACGTGCTGCCCCCTAGCCGCGACGAACTGACTAAAAATC AGGTCTCTCTGCTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGTAACGGCCAGCCCG AGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTG ATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTCGATA AAAGCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTCAGCTGCTCCG TCATGCACGAAGCACTGCACAACCATTACACTCAGAAGT CCCTGTCCCTGTCACCTGGC
154	18521	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYAINWVRQPPG KGLEWLGVLWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSKSQVFLKM

		NSLQTDDTARYYCARGSGTWYFDVWGAGTTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLL CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
155	18521	CAGGTGCAGCTGAAGGAGAGCGGACCAGGACTGGTGGC CCCCTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTTTCCCTGACCTCTTACGCCATCAACTGGGTGCGGCAG CCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGCTGTGG CCAGGAGGAGGCACAAACTATAATAGCGCCCTGAAGTC CAGGCTGTCTATCAGCAAGGACAACTCCAAGTCTCAGGT GTTCCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGATACAGC CCGGTACTATTGTGCCAGAGGCTCCGGCACCTGGTACTT TGACGTGTGGGGGGCAGGGACCACAGTGACAGTGAGCT CCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCC CATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGG GCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCG TGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACA CATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCT GTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCAC CCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAA TACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTG ATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGG CCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGA CATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGG

		TGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACA ATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCT ACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAG GATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAG CAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTC CAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACG TGCTGCCCCCTAGCCGCGACGAACTGACTAAAAATCAGG TCTCTCTGCTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAAAGTAACGGCCAGCCCGAGA ACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTGATG GGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTCGATAAAA GCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTCAGCTGCTCCGTCA TGCACGAAGCACTGCACAACCATTACACTCAGAAGTCCC TGTCCCTGTCACCTGGC
156	18522	QVQLQESGPGLVQPTQSLSITCTVSGFSLISYGVHWVRQSP GKGLEWLGVIWSGGSTDYNAAFISRLSISKDNSKSQVFFKM NSLQADDTAIYYCARNPLTATVMDYWGQGTSVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLL CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
157	18522	CAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGACCAGGACTGGTGCA GCCTACACAGTCTCTGAGCATCACCTGCACAGTGTCTGG CTTCAGCCTGATCTCCTACGGAGTGCACTGGGTGAGGCA GTCCCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTG GTCTGGCGGCAGCACCGACTATAACGCCGCCTTTATCTC

		CCGCCTGTCCATCTCTAAGGATAACAGCAAGTCCCAGGT GTTCTTTAAGATGAACAGCCTGCAGGCCGACGATACAGC CATCTACTATTGTGCCCGGAATCCCCTGACCGCCACAGT GATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCTCTGTGACAGTGAG CTCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGC CCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCT GGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGAC CGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCA CACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTC CCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTCTAC GTGCTGCCCCCTAGCCGCGACGAACTGACTAAAAATCAG GTCTCTCTGCTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGTAACGGCCAGCCCGAG AACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTGAT GGGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTCGATAAA AGCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTCAGCTGCTCCGTC ATGCACGAAGCACTGCACAACCATTACACTCAGAAGTCC CTGTCCCTGTCACCTGGC

158	18523	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYAISWVRQPPG KGLEWLGVIWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSKSQVFLKM NSLQTDDTARYYCARGTGTWYFDVWGAGTTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLL CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
159	18523	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCTGGACCAGGACTGGTGGC CCCCTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTTTCCCTGACCTCTTACGCAATCTCCTGGGTGCGGCAG CCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTGG CCAGGAGGAGGCACAAACTATAATAGCGCCCTGAAGTC CAGGCTGTCTATCAGCAAGGACAACTCCAAGTCTCAGGT GTTCCTGAAGATGAATAGCCTGCAGACCGACGATACAGC CCGGTACTATTGTGCCAGAGGCACCGGCACATGGTACTT TGACGTGTGGGGGGCAGGGACCACAGTGACAGTGAGCT CCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCC CATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGG GCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCG TGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACA CATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCT GTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCAC CCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAA TACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTG ATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGG CCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGC

		CCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGA CATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGG TGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACA ATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCT ACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAG GATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAG CAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTC CAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACG TGCTGCCCCCTAGCCGCGACGAACTGACTAAAAATCAGG TCTCTCTGCTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAAAGTAACGGCCAGCCCGAGA ACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTGATG GGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTCGATAAAA GCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTCAGCTGCTCCGTCA TGCACGAAGCACTGCACAACCATTACACTCAGAAGTCCC TGTCCCTGTCACCTGGC
160	18524	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTTYAISWVRQPPG KGLEWLGIIWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSRSQVFLKMN SLQTDDTARYYCARGAGTWYFDVWGAGTTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGQVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNW VKQSPGQSLEWIGRIHPYDGDTFYNQKFQGKATLTVDKSS NTAHMELLSLTSEDFAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGTTVT

		VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCK ASQSVSFAGTSLMHWYHQKPGQQPRLLIYRASNLEAGVPD RFSGSGSKTDFTLTISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGG TKLEIK
161	18524	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCCGGACCAGGACTGGTGGC CCCCTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTTTCCCTGACCACATACGCAATCTCTTGGGTGCGGCA GCCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGAATCATCTG GCCAGGAGGAGGCACAAACTATAATTCTGCCCTGAAGA GCAGGCTGTCTATCAGCAAGGACAACTCCCGCTCTCAGG TGTTCCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGATACAG CAAGGTACTATTGTGCCCGGGGGGCAGGGACCTGGTACT TTGACGTGTGGGGGGCAGGGACCACAGTGACAGTGAGC TCCGCTAGCACAAAGGGCCCAAGCGTGTTTCCTCTGGCC CCATCCTCTAAGAGCACCTCCGGAGGAACAGCCGCCCTG GGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCAGTGACC GTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCAC ACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCC CTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCT AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGAGCTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCAGGACCCCTGAGGT GACATGCGTGGTGGTGTCTGTGAGCCACGAGGACCCAGA GGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAATT CCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTG TCCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC

		TCTAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTAC GTGTATCCTCCAAGCAGAGACGAGCTGACCAAGAACCA GGTGTCCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTTTACCCCTCT GATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGA GAACAATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACAGCGA TGGCTCCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACCGTGGACAA GTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCCTGCTCTGT GATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACACAGAAGA GCCTGAGCTTAAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGACAGGTG CAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTGGTGAAGCCTGG GGCCAGCGTGAAGATCAGCTGCAAGGCCTCCGGCTACAC CTTCACAGGCTACTTCATGAACTGGGTGAAGCAGTCTCC TGGCCAGAGCCTGGAGTGGATCGGCAGAATCCACCCATA CGACGGCGATACCTTCTATAACCAGAAGTTTCAGGGCAA GGCCACCCTGACAGTGGACAAGAGCTCCAATACCGCCCA CATGGAGCTGCTGTCCCTGACATCTGAGGATTTCGCCGT GTACTATTGCACCCGGTACGACGGCTCCAGAGCCATGGA TTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTAGCGG AGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCG GCAGCGACATCGTGCTGACCCAGAGCCCACTGTCCCTGG CCGTGTCCCTGGGCCAGCCCGCCATCATCTCTTGTAAGG CCTCCCAGAGCGTGAGCTTCGCCGGGACCAGCCTGATGC ACTGGTACCACCAGAAGCCCGGCCAGCAGCCCAGACTG CTGATCTATAGGGCCTCCAATCTGGAGGCCGGAGTGCCA GACCGGTTCTCCGGCTCTGGCAGCAAGACCGACTTCACC CTGACAATCAGCCCTGTGGAGGCAGAGGATGCAGCAAC ATACTATTGTCAGCAGTCCAGGGAGTACCCATATACCTT TGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAG
162	18552	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTTYAISWVRQPPG KGLEWLGIIWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSRSQVFLKMN

		SLQTDDTARYYCARGAGTWYFDVWGAGTTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGDIVMTQTPASVEAAVGGTVTIKCQASQSIYSSLAWYQ QKPGQSPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTEFTLTISGVQ CDDAATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGGGTEVVVKGGGGS GGGGSGGGGSQEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCKASGFTISN NYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTYYASWAKGRF TISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCVRGYVGTSNLWGPG TLVTVSS
163	18552	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCCGGACCAGGACTGGTGGC CCCCTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTTTCCCTGACCACATACGCAATCTCTTGGGTGCGGCA GCCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGAATCATCTG GCCAGGAGGAGGCACAAACTATAATTCTGCCCTGAAGA GCAGGCTGTCTATCAGCAAGGACAACTCCCGCTCTCAGG TGTTCCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGATACAG CAAGGTACTATTGTGCCCGGGGGGCAGGGACCTGGTACT TTGACGTGTGGGGGGCAGGGACCACAGTGACAGTGAGC TCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCC CCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTG GGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACC GTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCAC ACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCC

		CTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCACAGGTGTA CGTGTATCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACAAAGAACC AGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCT CCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTG AGAACAATTATAAGACCACACCACCCGTGCTGGACTCTG ATGGCAGCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACAGTGGACA AGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGCAGCG TGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGT CCCTGTCTCTGAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGCGATATC GTGATGACCCAGACACCCGCCTCCGTGGAGGCCGCCGTG GGAGGAACCGTGACAATCAAGTGTCAGGCCTCCCAGTCT ATCTACAGCTCCCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGC CAGAGCCCAAAGCTGCTGATCTACGACGCCTCCCACCTG GCCTCTGGAGTGCCAAGCCGGTTCAGCGGCTCCAGATAT GGCACAGAGTTTACCCTGACAATCTCCGGAGTGCAGTGC GACGATGCAGCAACCTACTATTGTCAGGGAGGATGGTAC TCTAGCGCCGCCACCTATGTGCCTAACACATTCGGCGGC GGCACCGAGGTGGTGGTGAAGGGAGGAGGAGGCTCCGG

		CGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCCAGGAGCAGC TGGTGGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGAGGGC AGCCTGACCCTGACATGCAAGGCCTCCGGCTTTACCATC TCTAACAATTACTATATGTGCTGGGTGCGGCAGGCCCCA GGCAAGGGACTGGAGTGGATCGCCTGCATCTACGGCGG CATCTCTGGCAGGACATACTATGCCAGCTGGGCCAAGGG CCGCTTCACCATCTCCAAGACATCCTCTACCACAGTGAC CCTGCAGATGACCTCTCTGACAGCCGCCGATACCGCCAC ATACTTTTGCGTGCGGGGCTATGTGGGCACCAGCAATCT GTGGGGCCCTGGCACCCTGGTGACAGTGAGCTCC
164	18553	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWVRQSP GKGLEWLGVIWSGGSTDYNAAFISRLSISKDNSKSQVFFKM NSLQADDTAIYYCARNPLTATVMDYWGQGTSVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGDIVMTQTPASVEAAVGGTVTIKCQASQSIYSSLAWY QQKPGQSPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTEFTLTISGV QCDDAATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGGGTEVVVKGGG GSGGGGSGGGGSQEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCKASGFTI SNNYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTYYASWAKG RFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCVRGYVGTSNLWG PGTLVTVSS
165	18553	CAGGTGCAGCTGAAGCAGTCCGGACCAGGACTGGTGCA GCCTTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG

		CTTCTCCCTGACCTCTTACGGCGTGCACTGGGTGAGGCA GTCTCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTG GAGCGGAGGCTCCACAGACTATAACGCCGCCTTTATCTC TCGCCTGTCTATCAGCAAGGATAACTCCAAGTCTCAGGT GTTCTTTAAGATGAATAGCCTGCAGGCCGACGATACAGC CATCTACTATTGTGCCCGGAATCCCCTGACCGCCACAGT GATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGA GCTCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGG CCCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCC TGGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGA CCGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGC ACACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACT CCCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGG CACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTC CAATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTT GTGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAG AGGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCA AGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGG TGACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCG AGGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGC ACAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAAT TCTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCAC CAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGT GAGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCA TCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCACAGGTGT ACGTGTATCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACAAAGAAC CAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCC TCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCT GAGAACAATTATAAGACCACACCACCCGTGCTGGACTCT GATGGCAGCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACAGTGGAC

		AAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGCAGC GTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAG TCCCTGTCTCTGAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGCGATATC GTGATGACCCAGACACCCGCCTCCGTGGAGGCCGCCGTG GGAGGAACCGTGACAATCAAGTGTCAGGCCTCCCAGTCT ATCTACAGCTCCCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGC CAGAGCCCAAAGCTGCTGATCTACGACGCCTCCCACCTG GCCTCTGGAGTGCCAAGCCGGTTCAGCGGCTCCAGATAT GGCACAGAGTTTACCCTGACAATCTCCGGAGTGCAGTGC GACGATGCAGCAACCTACTATTGTCAGGGAGGATGGTAC TCTAGCGCCGCCACCTATGTGCCTAACACATTCGGCGGC GGCACCGAGGTGGTGGTGAAGGGAGGAGGAGGCTCCGG CGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCCAGGAGCAGC TGGTGGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGAGGGC AGCCTGACCCTGACATGCAAGGCCTCCGGCTTTACCATC TCTAACAATTACTATATGTGCTGGGTGCGGCAGGCCCCA GGCAAGGGACTGGAGTGGATCGCCTGCATCTACGGCGG CATCTCTGGCAGGACATACTATGCCAGCTGGGCCAAGGG CCGCTTCACCATCTCCAAGACATCCTCTACCACAGTGAC CCTGCAGATGACCTCTCTGACAGCCGCCGATACCGCCAC ATACTTTTGCGTGCGGGGCTATGTGGGCACCAGCAATCT GTGGGGCCCTGGCACCCTGGTGACAGTGAGCTCC
166	18554	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYAINWVRQPPG KGLEWLGVLWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSKSQVFLKM NSLQTDDTARYYCARGSGTWYFDVWGAGTTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS

		NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGDIVMTQTPASVEAAVGGTVTIKCQASQSIYSSLAWY QQKPGQSPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTEFTLTISGV QCDDAATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGGGTEVVVKGGG GSGGGGSGGGGSQEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCKASGFTI SNNYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTYYASWAKG RFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCVRGYVGTSNLWG PGTLVTVSS
167	18554	CAGGTGCAGCTGAAGGAGAGCGGACCAGGACTGGTGGC CCCCTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTTTCCCTGACCTCTTACGCCATCAACTGGGTGCGGCAG CCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGCTGTGG CCAGGAGGAGGCACAAACTATAATAGCGCCCTGAAGTC CAGGCTGTCTATCAGCAAGGACAACTCCAAGTCTCAGGT GTTCCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGATACAGC CCGGTACTATTGTGCCAGAGGCTCCGGCACCTGGTACTT TGACGTGTGGGGGGCAGGGACCACAGTGACAGTGAGCT CCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCC CATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGG GCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCG TGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACA CATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCT GTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCAC CCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAA TACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTG ATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGG CCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGA

		CATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGG TGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACA ATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCT ACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAG GATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAG CAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTC CAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCACAGGTGTACG TGTATCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACAAAGAACCAG GTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTCC GATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAG AACAATTATAAGACCACACCACCCGTGCTGGACTCTGAT GGCAGCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACAGTGGACAA GTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGCAGCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGTC CCTGTCTCTGAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGCGATATCGT GATGACCCAGACACCCGCCTCCGTGGAGGCCGCCGTGGG AGGAACCGTGACAATCAAGTGTCAGGCCTCCCAGTCTAT CTACAGCTCCCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCCA GAGCCCAAAGCTGCTGATCTACGACGCCTCCCACCTGGC CTCTGGAGTGCCAAGCCGGTTCAGCGGCTCCAGATATGG CACAGAGTTTACCCTGACAATCTCCGGAGTGCAGTGCGA CGATGCAGCAACCTACTATTGTCAGGGAGGATGGTACTC TAGCGCCGCCACCTATGTGCCTAACACATTCGGCGGCGG CACCGAGGTGGTGGTGAAGGGAGGAGGAGGCTCCGGCG GAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCCAGGAGCAGCTG GTGGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGAGGGCAG CCTGACCCTGACATGCAAGGCCTCCGGCTTTACCATCTCT AACAATTACTATATGTGCTGGGTGCGGCAGGCCCCAGGC AAGGGACTGGAGTGGATCGCCTGCATCTACGGCGGCATC TCTGGCAGGACATACTATGCCAGCTGGGCCAAGGGCCGC

		TTCACCATCTCCAAGACATCCTCTACCACAGTGACCCTG CAGATGACCTCTCTGACAGCCGCCGATACCGCCACATAC TTTTGCGTGCGGGGCTATGTGGGCACCAGCAATCTGTGG GGCCCTGGCACCCTGGTGACAGTGAGCTCC
168	18555	QVQLQESGPGLVQPTQSLSITCTVSGFSLISYGVHWVRQSP GKGLEWLGVIWSGGSTDYNAAFISRLSISKDNSKSQVFFKM NSLQADDTAIYYCARNPLTATVMDYWGQGTSVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGDIVMTQTPASVEAAVGGTVTIKCQASQSIYSSLAWY QQKPGQSPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTEFTLTISGV QCDDAATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGGGTEVVVKGGG GSGGGGSGGGGSQEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCKASGFTI SNNYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTYYASWAKG RFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCVRGYVGTSNLWG PGTLVTVSS
169	18555	CAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGACCAGGACTGGTGCA GCCTACACAGTCTCTGAGCATCACCTGCACAGTGTCTGG CTTCAGCCTGATCTCCTACGGAGTGCACTGGGTGAGGCA GTCCCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTG GTCTGGCGGCAGCACCGACTATAACGCCGCCTTTATCTC CCGCCTGTCCATCTCTAAGGATAACAGCAAGTCCCAGGT GTTCTTTAAGATGAACAGCCTGCAGGCCGACGATACAGC CATCTACTATTGTGCCCGGAATCCCCTGACCGCCACAGT

		GATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCTCTGTGACAGTGAG CTCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGC CCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCT GGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGAC CGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCA CACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTC CCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCACAGGTGTA CGTGTATCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACAAAGAACC AGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCT CCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTG AGAACAATTATAAGACCACACCACCCGTGCTGGACTCTG ATGGCAGCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACAGTGGACA AGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGCAGCG TGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGT CCCTGTCTCTGAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGCGATATC GTGATGACCCAGACACCCGCCTCCGTGGAGGCCGCCGTG GGAGGAACCGTGACAATCAAGTGTCAGGCCTCCCAGTCT ATCTACAGCTCCCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGC

		CAGAGCCCAAAGCTGCTGATCTACGACGCCTCCCACCTG GCCTCTGGAGTGCCAAGCCGGTTCAGCGGCTCCAGATAT GGCACAGAGTTTACCCTGACAATCTCCGGAGTGCAGTGC GACGATGCAGCAACCTACTATTGTCAGGGAGGATGGTAC TCTAGCGCCGCCACCTATGTGCCTAACACATTCGGCGGC GGCACCGAGGTGGTGGTGAAGGGAGGAGGAGGCTCCGG CGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCCAGGAGCAGC TGGTGGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGAGGGC AGCCTGACCCTGACATGCAAGGCCTCCGGCTTTACCATC TCTAACAATTACTATATGTGCTGGGTGCGGCAGGCCCCA GGCAAGGGACTGGAGTGGATCGCCTGCATCTACGGCGG CATCTCTGGCAGGACATACTATGCCAGCTGGGCCAAGGG CCGCTTCACCATCTCCAAGACATCCTCTACCACAGTGAC CCTGCAGATGACCTCTCTGACAGCCGCCGATACCGCCAC ATACTTTTGCGTGCGGGGCTATGTGGGCACCAGCAATCT GTGGGGCCCTGGCACCCTGGTGACAGTGAGCTCC
170	5244	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSG GGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHW VRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT LVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
171	5244	GACATTCAGATGACACAGAGCCCCAGCTCCCTGAGTGCT TCAGTCGGCGACAGGGTGACTATCACCTGCCGCGCATCC

		CAGGATGTCAACACCGCTGTGGCATGGTACCAGCAGAA GCCTGGAAAAGCCCCAAAGCTGCTGATCTACAGCGCTTC CTTCCTGTATTCTGGCGTGCCAAGTCGGTTTTCTGGAAGT AGATCAGGCACTGACTTCACACTGACTATCTCTAGTCTG CAGCCCGAAGATTTTGCCACCTACTATTGCCAGCAGCAC TATACCACACCCCCTACATTCGGACAGGGCACTAAAGTG GAGATTAAGGGCGGGTCAGGCGGAGGGAGCGGAGGAGG GTCCGGAGGAGGGTCTGGAGGAGGGAGTGGAGAGGTCC AGCTGGTGGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGGA GGCTCACTGCGACTGAGCTGTGCCGCTTCCGGCTTTAAC ATCAAAGACACATACATTCATTGGGTCAGGCAGGCACCA GGGAAGGGACTGGAATGGGTGGCCCGCATCTATCCCAC AAATGGGTACACTCGATATGCCGACAGCGTGAAAGGAC GGTTTACCATTTCTGCTGATACCAGTAAGAACACAGCAT ACCTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCAGAGGATACAGCC GTGTACTATTGCAGTCGATGGGGGGGAGACGGCTTCTAC GCCATGGATTATTGGGGCCAGGGGACTCTGGTCACCGTG TCAAGCGCAGCCGAACCTAAATCCTCTGACAAGACCCAC ACATGCCCACCCTGTCCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGA CCATCCGTGTTCCTGTTTCCTCCAAAGCCTAAAGATACAC TGATGATTAGCCGCACTCCCGAAGTCACCTGTGTGGTCG TGGACGTGTCCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACT GGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACT AAACCAAGAGAGGAACAGTACAATTCAACCTATAGGGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAA CGGCAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGTCTAACAAGGCCC TGCCCGCTCCTATCGAGAAGACTATTAGCAAGGCAAAAG GGCAGCCACGGGAACCCCAGGTCTACGTGCTGCCCCCTA GCAGAGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTCTCCCTGCTGT GTCTGGTGAAGGGCTTTTATCCTAGTGATATCGCTGTGG

		AGTGGGAATCAAATGGGCAGCCAGAAAACAATTACCTG ACATGGCCACCCGTGCTGGACAGCGATGGGTCCTTCTTT CTGTATTCCAAACTGACTGTGGACAAGTCTAGATGGCAG CAGGGAAACGTCTTCAGCTGTTCCGTGATGCACGAGGCC CTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCTCTGAGTCTGTCA CCCGGC
172	18557	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTTYAISWVRQPPG KGLEWLGIIWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSRSQVFLKMN SLQTDDTARYYCARGAGTWYFDVWGAGTTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGDIVMTQTPSSVSAAVGGTVTIKCQASQTIGSSLAWYQ QKPGQPPKLLIYRASTLASGVSSRFRGSGSGTEYTLTISDLE CADAATYYCQWTDYGYIYIWAFGGGTEVVVKGGGGSGG GGSGGGGSQEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCTASKFSFSSLY YMCWVRQAPGKGLEWIACVYGGSSGNTYYASWAKGRFTI SKASSTTVTLQLTSLTAADTATYFCARFDVDGSGFNLWGP GTLVTVSS
173	18557	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCCGGACCAGGACTGGTGGC CCCCTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTTTCCCTGACCACATACGCAATCTCTTGGGTGCGGCA GCCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGAATCATCTG GCCAGGAGGAGGCACAAACTATAATTCTGCCCTGAAGA GCAGGCTGTCTATCAGCAAGGACAACTCCCGCTCTCAGG

		TGTTCCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGATACAG CAAGGTACTATTGTGCCCGGGGGGCAGGGACCTGGTACT TTGACGTGTGGGGGGCAGGGACCACAGTGACAGTGAGC TCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCC CCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTG GGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACC GTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCAC ACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCC CTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTAC GTGTATCCCCCTAGCAGAGACGAGCTGACAAAGAACCA GGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTCT GATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGA GAACAATTACAAGACCACACCACCCGTGCTGGACAGCG ATGGCTCCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACAGTGGACA AGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGCAGCG TGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTATACCCAGAAGT CCCTGTCTCTGAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGCGATATC GTGATGACCCAGACACCAAGCTCCGTGAGCGCCGCCGTG

		GGAGGAACCGTGACAATCAAGTGTCAGGCCTCCCAGAC CATCGGCTCTAGCCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGG CCAGCCTCCAAAGCTGCTGATCTACAGAGCCTCCACACT GGCCTCTGGCGTGTCCTCTCGGTTCAGAGGCTCCGGCTCT GGCACCGAGTACACCCTGACAATCAGCGACCTGGAGTGC GCAGATGCAGCAACATACTATTGTCAGTGGACCGACTAC GGCTATATCTACATCTGGGCCTTTGGCGGAGGAACCGAG GTGGTGGTGAAGGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGCGGAGG CTCCGGCGGCGGCGGCTCTCAGGAGCAGCTGGTGGAGTC TGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGAGGGCTCCCTGACCCT GACATGCACCGCCTCTAAGTTCAGCTTTAGCTCCCTGTAC TATATGTGCTGGGTGAGGCAGGCCCCAGGCAAGGGACT GGAGTGGATCGCCTGCGTGTATGGCGGCTCTAGCGGCAA CACCTACTATGCCTCCTGGGCCAAGGGCCGCTTCACAAT CTCTAAGGCCTCCTCTACCACAGTGACCCTGCAGCTGAC AAGCCTGACCGCCGCCGATACAGCCACCTACTTCTGTGC CCGGTTTGACGTGGATGGCTCCGGCTTTAATCTGTGGGG ACCAGGCACACTGGTGACCGTGAGCTCC
174	18558	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWVRQSP GKGLEWLGVIWSGGSTDYNAAFISRLSISKDNSKSQVFFKM NSLQADDTAIYYCARNPLTATVMDYWGQGTSVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGDIVMTQTPSSVSAAVGGTVTIKCQASQTIGSSLAWY

		QQKPGQPPKLLIYRASTLASGVSSRFRGSGSGTEYTLTISDL ECADAATYYCQWTDYGYIYIWAFGGGTEVVVKGGGGSGG GGSGGGGSQEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCTASKFSFSSLY YMCWVRQAPGKGLEWIACVYGGSSGNTYYASWAKGRFTI SKASSTTVTLQLTSLTAADTATYFCARFDVDGSGFNLWGP GTLVTVSS
175	18558	CAGGTGCAGCTGAAGCAGTCCGGACCAGGACTGGTGCA GCCTTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTCTCCCTGACCTCTTACGGCGTGCACTGGGTGAGGCA GTCTCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTG GAGCGGAGGCTCCACAGACTATAACGCCGCCTTTATCTC TCGCCTGTCTATCAGCAAGGATAACTCCAAGTCTCAGGT GTTCTTTAAGATGAATAGCCTGCAGGCCGACGATACAGC CATCTACTATTGTGCCCGGAATCCCCTGACCGCCACAGT GATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGA GCTCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGG CCCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCC TGGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGA CCGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGC ACACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACT CCCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGG CACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTC CAATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTT GTGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAG AGGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCA AGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGG TGACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCG AGGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGC ACAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAAT TCTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCAC

		CAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGT GAGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCA TCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGT ACGTGTATCCCCCTAGCAGAGACGAGCTGACAAAGAAC CAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTATCCC TCTGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCT GAGAACAATTACAAGACCACACCACCCGTGCTGGACAG CGATGGCTCCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACAGTGGA CAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGCAG CGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTATACCCAGAA GTCCCTGTCTCTGAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGCGATAT CGTGATGACCCAGACACCAAGCTCCGTGAGCGCCGCCGT GGGAGGAACCGTGACAATCAAGTGTCAGGCCTCCCAGA CCATCGGCTCTAGCCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTG GCCAGCCTCCAAAGCTGCTGATCTACAGAGCCTCCACAC TGGCCTCTGGCGTGTCCTCTCGGTTCAGAGGCTCCGGCTC TGGCACCGAGTACACCCTGACAATCAGCGACCTGGAGTG CGCAGATGCAGCAACATACTATTGTCAGTGGACCGACTA CGGCTATATCTACATCTGGGCCTTTGGCGGAGGAACCGA GGTGGTGGTGAAGGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGCGGAG GCTCCGGCGGCGGCGGCTCTCAGGAGCAGCTGGTGGAGT CTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGAGGGCTCCCTGACCC TGACATGCACCGCCTCTAAGTTCAGCTTTAGCTCCCTGTA CTATATGTGCTGGGTGAGGCAGGCCCCAGGCAAGGGACT GGAGTGGATCGCCTGCGTGTATGGCGGCTCTAGCGGCAA CACCTACTATGCCTCCTGGGCCAAGGGCCGCTTCACAAT CTCTAAGGCCTCCTCTACCACAGTGACCCTGCAGCTGAC AAGCCTGACCGCCGCCGATACAGCCACCTACTTCTGTGC CCGGTTTGACGTGGATGGCTCCGGCTTTAATCTGTGGGG ACCAGGCACACTGGTGACCGTGAGCTCC

176	18559	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYAINWVRQPPG KGLEWLGVLWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSKSQVFLKM NSLQTDDTARYYCARGSGTWYFDVWGAGTTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGDIVMTQTPSSVSAAVGGTVTIKCQASQTIGSSLAWY QQKPGQPPKLLIYRASTLASGVSSRFRGSGSGTEYTLTISDL ECADAATYYCQWTDYGYIYIWAFGGGTEVVVKGGGGSGG GGSGGGGSQEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCTASKFSFSSLY YMCWVRQAPGKGLEWIACVYGGSSGNTYYASWAKGRFTI SKASSTTVTLQLTSLTAADTATYFCARFDVDGSGFNLWGP GTLVTVSS
177	18559	CAGGTGCAGCTGAAGGAGAGCGGACCAGGACTGGTGGC CCCCTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTTTCCCTGACCTCTTACGCCATCAACTGGGTGCGGCAG CCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGCTGTGG CCAGGAGGAGGCACAAACTATAATAGCGCCCTGAAGTC CAGGCTGTCTATCAGCAAGGACAACTCCAAGTCTCAGGT GTTCCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGATACAGC CCGGTACTATTGTGCCAGAGGCTCCGGCACCTGGTACTT TGACGTGTGGGGGGCAGGGACCACAGTGACAGTGAGCT CCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCC CATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGG GCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCG

		TGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACA CATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCT GTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCAC CCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAA TACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTG ATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGG CCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGA CATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGG TGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACA ATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCT ACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAG GATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAG CAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTC CAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTACG TGTATCCCCCTAGCAGAGACGAGCTGACAAAGAACCAG GTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTCTG ATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAG AACAATTACAAGACCACACCACCCGTGCTGGACAGCGAT GGCTCCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACAGTGGACAAG TCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGCAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTATACCCAGAAGTCC CTGTCTCTGAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGCGATATCGT GATGACCCAGACACCAAGCTCCGTGAGCGCCGCCGTGG GAGGAACCGTGACAATCAAGTGTCAGGCCTCCCAGACC ATCGGCTCTAGCCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGC CAGCCTCCAAAGCTGCTGATCTACAGAGCCTCCACACTG GCCTCTGGCGTGTCCTCTCGGTTCAGAGGCTCCGGCTCTG GCACCGAGTACACCCTGACAATCAGCGACCTGGAGTGCG CAGATGCAGCAACATACTATTGTCAGTGGACCGACTACG

		GCTATATCTACATCTGGGCCTTTGGCGGAGGAACCGAGG TGGTGGTGAAGGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGCGGAGGC TCCGGCGGCGGCGGCTCTCAGGAGCAGCTGGTGGAGTCT GGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGAGGGCTCCCTGACCCTG ACATGCACCGCCTCTAAGTTCAGCTTTAGCTCCCTGTACT ATATGTGCTGGGTGAGGCAGGCCCCAGGCAAGGGACTG GAGTGGATCGCCTGCGTGTATGGCGGCTCTAGCGGCAAC ACCTACTATGCCTCCTGGGCCAAGGGCCGCTTCACAATC TCTAAGGCCTCCTCTACCACAGTGACCCTGCAGCTGACA AGCCTGACCGCCGCCGATACAGCCACCTACTTCTGTGCC CGGTTTGACGTGGATGGCTCCGGCTTTAATCTGTGGGGA CCAGGCACACTGGTGACCGTGAGCTCC
178	18560	QVQLQESGPGLVQPTQSLSITCTVSGFSLISYGVHWVRQSP GKGLEWLGVIWSGGSTDYNAAFISRLSISKDNSKSQVFFKM NSLQADDTAIYYCARNPLTATVMDYWGQGTSVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGDIVMTQTPSSVSAAVGGTVTIKCQASQTIGSSLAWY QQKPGQPPKLLIYRASTLASGVSSRFRGSGSGTEYTLTISDL ECADAATYYCQWTDYGYIYIWAFGGGTEVVVKGGGGSGG GGSGGGGSQEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCTASKFSFSSLY YMCWVRQAPGKGLEWIACVYGGSSGNTYYASWAKGRFTI SKASSTTVTLQLTSLTAADTATYFCARFDVDGSGFNLWGP GTLVTVSS

179	18560	CAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGACCAGGACTGGTGCA GCCTACACAGTCTCTGAGCATCACCTGCACAGTGTCTGG CTTCAGCCTGATCTCCTACGGAGTGCACTGGGTGAGGCA GTCCCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTG GTCTGGCGGCAGCACCGACTATAACGCCGCCTTTATCTC CCGCCTGTCCATCTCTAAGGATAACAGCAAGTCCCAGGT GTTCTTTAAGATGAACAGCCTGCAGGCCGACGATACAGC CATCTACTATTGTGCCCGGAATCCCCTGACCGCCACAGT GATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCTCTGTGACAGTGAG CTCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGC CCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCT GGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGAC CGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCA CACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTC CCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTAC GTGTATCCCCCTAGCAGAGACGAGCTGACAAAGAACCA GGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTCT GATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGA

		GAACAATTACAAGACCACACCACCCGTGCTGGACAGCG ATGGCTCCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACAGTGGACA AGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGCAGCG TGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTATACCCAGAAGT CCCTGTCTCTGAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGCGATATC GTGATGACCCAGACACCAAGCTCCGTGAGCGCCGCCGTG GGAGGAACCGTGACAATCAAGTGTCAGGCCTCCCAGAC CATCGGCTCTAGCCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGG CCAGCCTCCAAAGCTGCTGATCTACAGAGCCTCCACACT GGCCTCTGGCGTGTCCTCTCGGTTCAGAGGCTCCGGCTCT GGCACCGAGTACACCCTGACAATCAGCGACCTGGAGTGC GCAGATGCAGCAACATACTATTGTCAGTGGACCGACTAC GGCTATATCTACATCTGGGCCTTTGGCGGAGGAACCGAG GTGGTGGTGAAGGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGCGGAGG CTCCGGCGGCGGCGGCTCTCAGGAGCAGCTGGTGGAGTC TGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGAGGGCTCCCTGACCCT GACATGCACCGCCTCTAAGTTCAGCTTTAGCTCCCTGTAC TATATGTGCTGGGTGAGGCAGGCCCCAGGCAAGGGACT GGAGTGGATCGCCTGCGTGTATGGCGGCTCTAGCGGCAA CACCTACTATGCCTCCTGGGCCAAGGGCCGCTTCACAAT CTCTAAGGCCTCCTCTACCACAGTGACCCTGCAGCTGAC AAGCCTGACCGCCGCCGATACAGCCACCTACTTCTGTGC CCGGTTTGACGTGGATGGCTCCGGCTTTAATCTGTGGGG ACCAGGCACACTGGTGACCGTGAGCTCC
180	18561	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYAISWVRQPPG KGLEWLGVIWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSKSQVFLKM NSLQTDDTARYYCARGTGTWYFDVWGAGTTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP

		KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGDIVMTQTPSSVSAAVGGTVTIKCQASQTIGSSLAWY QQKPGQPPKLLIYRASTLASGVSSRFRGSGSGTEYTLTISDL ECADAATYYCQWTDYGYIYIWAFGGGTEVVVKGGGGSGG GGSGGGGSQEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCTASKFSFSSLY YMCWVRQAPGKGLEWIACVYGGSSGNTYYASWAKGRFTI SKASSTTVTLQLTSLTAADTATYFCARFDVDGSGFNLWGP GTLVTVSS
181	18561	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCTGGACCAGGACTGGTGGC CCCCTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTTTCCCTGACCTCTTACGCAATCTCCTGGGTGCGGCAG CCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTGG CCAGGAGGAGGCACAAACTATAATAGCGCCCTGAAGTC CAGGCTGTCTATCAGCAAGGACAACTCCAAGTCTCAGGT GTTCCTGAAGATGAATAGCCTGCAGACCGACGATACAGC CCGGTACTATTGTGCCAGAGGCACCGGCACATGGTACTT TGACGTGTGGGGGGCAGGGACCACAGTGACAGTGAGCT CCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCC CATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGG GCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCG TGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACA CATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCT GTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCAC CCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAA TACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTG ATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGG

		CCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGA CATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGG TGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACA ATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCT ACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAG GATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAG CAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTC CAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTACG TGTATCCCCCTAGCAGAGACGAGCTGACAAAGAACCAG GTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTCTG ATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAG AACAATTACAAGACCACACCACCCGTGCTGGACAGCGAT GGCTCCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACAGTGGACAAG TCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGCAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTATACCCAGAAGTCC CTGTCTCTGAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGCGATATCGT GATGACCCAGACACCAAGCTCCGTGAGCGCCGCCGTGG GAGGAACCGTGACAATCAAGTGTCAGGCCTCCCAGACC ATCGGCTCTAGCCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGC CAGCCTCCAAAGCTGCTGATCTACAGAGCCTCCACACTG GCCTCTGGCGTGTCCTCTCGGTTCAGAGGCTCCGGCTCTG GCACCGAGTACACCCTGACAATCAGCGACCTGGAGTGCG CAGATGCAGCAACATACTATTGTCAGTGGACCGACTACG GCTATATCTACATCTGGGCCTTTGGCGGAGGAACCGAGG TGGTGGTGAAGGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGCGGAGGC TCCGGCGGCGGCGGCTCTCAGGAGCAGCTGGTGGAGTCT GGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGAGGGCTCCCTGACCCTG ACATGCACCGCCTCTAAGTTCAGCTTTAGCTCCCTGTACT ATATGTGCTGGGTGAGGCAGGCCCCAGGCAAGGGACTG

		GAGTGGATCGCCTGCGTGTATGGCGGCTCTAGCGGCAAC ACCTACTATGCCTCCTGGGCCAAGGGCCGCTTCACAATC TCTAAGGCCTCCTCTACCACAGTGACCCTGCAGCTGACA AGCCTGACCGCCGCCGATACAGCCACCTACTTCTGTGCC CGGTTTGACGTGGATGGCTCCGGCTTTAATCTGTGGGGA CCAGGCACACTGGTGACCGTGAGCTCC
182	14471	DIQMTQSTSSLSASVGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQKPD GTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEPEDIA TYYCQQYSKFPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
183	14471	GACATCCAGATGACCCAGTCCACAAGCTCCCTGTCCGCC TCTGTGGGCGATAGAGTGACAATCAGCTGCTCCGCCTCT CAGGGCATCTCTAACTACCTGAATTGGTATCAGCAGAAG CCTGACGGCACCGTGAAGCTGCTGATCTACTATACATCT AGCCTGCACAGCGGAGTGCCATCCAGGTTTAGCGGCTCC GGCTCTGGCACCGACTACTCTCTGACAATCAGCAACCTG GAGCCCGAGGATATCGCCACCTACTATTGTCAGCAGTAT AGCAAGTTCCCTTGGACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTG GAGATCAAGCGCACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCATT TTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGCC AGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGAG GCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCC GGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCAAA AGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTGAG CAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGA AGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATC ATTCAACAGAGGGGAGTGC
184	4553	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA

		PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
185	4553	GAAGTCCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCA GCCAGGAGGGTCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAGG CTTCAACATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTGCGCCA GGCTCCTGGAAAAGGCCTGGAGTGGGTGGCACGAATCT ATCCAACTAATGGATACACCCGGTATGCAGACAGCGTGA AGGGCCGGTTCACCATTAGCGCAGATACATCCAAAAACA CTGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATA CTGCTGTGTACTATTGCAGTCGGTGGGGAGGCGACGGCT TCTACGCTATGGATTATTGGGGGCAGGGAACCCTGGTCA CAGTGAGCTCCGCATCTACAAAGGGGCCTAGTGTGTTTC CACTGGCCCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGGGGAACAG CAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCAGAGC CCGTCACTGTGAGTTGGAACTCAGGCGCCCTGACATCCG GGGTCCATACTTTTCCTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGCCT GTACTCTCTGTCCTCTGTGGTCACCGTGCCAAGTTCAAGC CTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTGAATCACAAG CCAAGCAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAACCCAA GAGCTGTGATAAAACACATACTTGCCCCCCTTGTCCTGC ACCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCCTGTTTCC

		ACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTTCCAGGACTCC AGAAGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGTGTCTCACGAGGA CCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGA GGTGCATAATGCCAAGACAAAACCCAGGGAGGAACAGT ACAACTCAACTTATCGCGTCGTGAGCGTCCTGACCGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAA AACCATTAGCAAGGCCAAAGGGCAGCCTAGAGAACCAC AGGTCTACGTGTATCCTCCAAGCAGGGACGAGCTGACCA AGAACCAGGTCTCCCTGACATGTCTGGTGAAAGGGTTTT ACCCCAGTGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCTGAAAACAATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGG ACAGCGATGGCAGCTTCGCTCTGGTCTCCAAGCTGACTG TGGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTTAGTT GTTCAGTGATGCATGAGGCACTGCACAATCATTACACCC AGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAA
186	10443	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSG GGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHW VRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT LVTVSSGGEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYW ISWVRQMPGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISAD KSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK

		EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELT KNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG
187	10443	GACATCCAGATGACACAGTCCCCAAGCTCCCTGTCCGCC TCTGTGGGCGACAGGGTGACCATCACATGCAGGGCCAGC CAGGATGTGAACACCGCCGTGGCCTGGTACCAGCAGAA GCCAGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACAGCGCCTC CTTCCTGTATTCTGGCGTGCCAAGCCGGTTTTCTGGCAGC AGATCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCTCTAGCCTG CAGCCCGAGGATTTTGCCACATACTATTGCCAGCAGCAC TACACCACACCCCCTACCTTCGGCCAGGGCACAAAGGTG GAGATCAAGGGCGGCTCCGGCGGCGGCTCTGGAGGAGG CAGCGGAGGAGGCTCCGGCGGAGGCTCTGGCGAGGTGC AGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGCCTGGTGCAGCCAGGA GGCAGCCTGAGACTGTCCTGTGCCGCCTCTGGCTTTAAC ATCAAGGACACCTACATCCACTGGGTGCGGCAGGCCCCC GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCCAGAATCTATCCTACC AATGGCTACACACGGTATGCCGACTCCGTGAAGGGCCGG TTCACCATCAGCGCCGATACCTCCAAGAACACAGCCTAC CTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGATACAGCCGT GTACTATTGCAGCCGCTGGGGAGGCGACGGCTTCTACGC CATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTC CTCTGGCGGAGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGA GGTGAAGAAGCCCGGCGAGTCTCTGAGGATCAGCTGTA AGGGCTCCGGCTACTCTTTTAGCACCTATTGGATCTCCTG GGTGCGCCAGATGCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATGG GCAAGATCTACCCTGGCGACTCCTACACAAATTATTCCC CATCTTTCCAGGGCCAGGTGACCATCTCTGCCGATAAGA GCATCTCCACAGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAGG

		CCAGCGACACCGCCATGTACTATTGTGCCAGAGGCTACG GCATCTTCGACTACTGGGGACAGGGCACCCTGGTCACAG TGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGGCCTTCCGTGTTTCCACT GGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGC ACTGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGT CACAGTGAGTTGGAACTCAGGGGCTCTGACAAGTGGAGT CCATACTTTTCCCGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGACTGTA CTCCCTGTCCTCTGTGGTCACCGTGCCTAGTTCAAGCCTG GGCACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCA TCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCCAAGAG CTGTGATAAAACTCATACCTGCCCACCTTGTCCGGCGCC AGAGGCAGCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACC CAAGCCCAAAGACACCCTGATGATTAGCCGAACCCCTGA AGTCACATGCGTGGTCGTGTCCGTGTCTCACGAGGACCC AGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGT GCATAATGCCAAGACAAAACCCCGGGAGGAACAGTACA ACAGCACCTATAGAGTCGTGTCCGTCCTGACAGTGCTGC ACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAATATAAGTGCAAA GTGTCCAATAAGGCCCTGCCCGCTCCTATCGAGAAAACC ATTTCTAAGGCAAAAGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTC TACGTGCTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGACAAAGAAC CAGGTCTCTCTGCTGTGCCTGGTGAAAGGCTTCTATCCAT CAGATATTGCTGTGGAGTGGGAAAGCAATGGGCAGCCC GAGAACAATTACCTGACTTGGCCCCCTGTGCTGGACTCT GATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCTAAGCTGACCGTGGATA AAAGTAGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTTAGTTGTTCAG TGATGCATGAAGCCCTGCATAACCACTACACCCAGAAAA GCCTGTCCCTGTCCCCCGGA
188	10445	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQM PGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYL

		QWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLL CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQ QKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGG GSGGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI HWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQ GTLVTVSS
189	10445	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCAGAGGTGAAGAA GCCTGGCGAGAGCCTGAGGATCTCCTGCAAGGGCTCTGG CTACTCCTTTTCTACCTATTGGATCAGCTGGGTGCGCCAG ATGCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGCAAGATCTA CCCTGGCGACTCCTACACAAACTATAGCCCATCCTTCCA GGGCCAGGTGACCATCTCTGCCGATAAGTCTATCAGCAC AGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAGGCCTCCGACAC CGCCATGTACTATTGCGCCAGAGGCTACGGCATCTTTGA TTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGC TAGCACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCATC CTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTG TCTGGTGAAGGACTACTTTCCTGAGCCAGTGACCGTGTC TTGGAACAGCGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATT CCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCT

		AGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAG ACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCCAATACA AAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAA GACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGC CGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAA GGACACCCTGATGATCTCCAGGACCCCTGAGGTGACATG CGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCAGAGGTGA AGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATG CCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACTCTACC TATCGCGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGAT TGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAAT AAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCAGCAA GGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTGCT GCCTCCATCTAGAGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTGA GCCTGCTGTGCCTGGTGAAGGGCTTTTATCCCAGCGATA TCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCTGAGAAC AATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCCGATGGC TCTTTCTTTCTGTATTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCTC GCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTTGCAGCGTGATGC ACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGTCCCTGA GCTTAAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGCGATATCCAGATG ACACAGAGCCCATCCTCTCTGTCCGCCTCTGTGGGCGAC AGGGTGACCATCACATGTCGCGCCTCCCAGGATGTGAAT ACCGCCGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGCAAGGC CCCCAAGCTGCTGATCTACAGCGCCTCCTTCCTGTATAGC GGCGTGCCATCCCGGTTTTCTGGCAGCAGATCCGGCACC GACTTCACCCTGACAATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGAT TTTGCCACATACTATTGCCAGCAGCACTACACCACACCA CCCACCTTCGGCCAGGGCACAAAGGTGGAGATCAAGGG AGGCTCTGGAGGAGGCAGCGGAGGAGGCTCCGGAGGAG

		GCTCTGGCGGCGGCAGCGGCGAGGTGCAGCTGGTGGAG AGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCTCCCTGCGG CTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTTCAACATCAAGGACACC TACATCCACTGGGTGCGGCAGGCACCTGGCAAGGGCCTG GAATGGGTGGCCAGAATCTATCCAACCAATGGCTACACA CGGTATGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCC GCCGATACCTCTAAGAACACAGCCTACCTGCAGATGAAT AGCCTGAGGGCCGAGGATACAGCCGTGTACTATTGCTCC AGATGGGGAGGCGACGGCTTCTACGCCATGGACTACTGG GGACAGGGCACCCTGGTCACAGTGTCTAGC
190	21112	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFSLTTYAISWVRQAP GKGLEWVSIIWPGGGTNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAGTWYFDVWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
191	21112	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGACTGATCCA GCCAGGAGGCTCCCTGCGGCTGTCTTGCGCCGCCTCTGG CTTTAGCCTGACCACATACGCCATCTCTTGGGTGAGACA GGCCCCCGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGTCTATCATCTG GCCTGGCGGCGGCACAAACTACGCCGACAGCGTGAAGG GCCGGTTCACCATCAGCAGAGATAACTCCAAGAATACAC TGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACCG CCGTGTACTATTGTGCCCGGGGGGCAGGGACATGGTATT TTGACGTGTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGAGCT

		CCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCC CATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGG GCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCG TGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACA CATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCT GTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCAC CCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAA TACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTG ATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGG CCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGA CATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGG TGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACA ATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCT ACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAG GATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAG CAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTC CAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACA CTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGG TCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAGCG ATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGAGA ACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATG GCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATC ACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGAT GCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGAGCCT GAGCCTGTCTCCCGGC
192	21113	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAVSGFSLTTYAISWVRQAP GKGLEWLGIIWPGGGTNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAGTWYFDVWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG

		ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
193	21113	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGACTGATCCA GCCAGGAGGCTCCCTGCGGCTGTCTTGCGCCGTGTCTGG CTTTAGCCTGACCACATACGCCATCTCTTGGGTGAGACA GGCCCCCGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGAATCATCT GGCCTGGAGGAGGCACAAACTACGCCGACTCTGTGAAG GGCCGGTTCACCATCAGCAGAGATAACTCCAAGAATACA CTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACC GCCGTGTACTATTGTGCCCGGGGGGCAGGGACATGGTAT TTTGACGTGTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGAGC TCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCC CCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTG GGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACC GTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCAC ACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCC CTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT

		CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTA CACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCA GGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGA GAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGA TGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAA ATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGT GATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGA GCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
194	21114	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAVSGFSLTTYAISWVRQAP GKGLEWLGIIWPGGGTNYADSVKGRFTISKDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAGTWYFDVWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
195	21114	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGCGGCGGCCTGATCCA GCCAGGAGGCTCCCTGAGGCTGTCTTGCGCCGTGTCTGG CTTTAGCCTGACCACATACGCAATCTCTTGGGTGCGCCA GGCCCCCGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGAATCATCT GGCCTGGAGGAGGCACAAACTACGCCGACTCTGTGAAG GGCCGGTTCACCATCAGCAAGGATAACTCCAAGAATACA CTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGCGGGCAGAGGACACC

		GCCGTGTACTATTGTGCCCGGGGGGCAGGGACATGGTAT TTTGACGTGTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGAGC TCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCC CCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTG GGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACC GTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCAC ACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCC CTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTA CACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCA GGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGA GAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGA TGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAA ATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGT GATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGA GCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
196	4560	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN

		STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
197	4560	GAACCTAAAAGCAGCGACAAGACCCACACATGCCCCCC TTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTT CCTGTTTCCACCCAAGCCCAAAGATACACTGATGATCAG CCGAACTCCCGAGGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGTGTC CCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGA CGGCGTCGAAGTGCATAATGCAAAGACTAAACCACGGG AGGAACAGTACAACTCTACATATAGAGTCGTGAGTGTCC TGACTGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGT ATAAGTGCAAAGTGTCTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAA TCGAGAAAACTATTAGTAAGGCAAAAGGGCAGCCCAGG GAACCTCAGGTCTACGTGCTGCCTCCAAGTCGCGACGAG CTGACCAAGAACCAGGTCTCACTGCTGTGTCTGGTGAAA GGATTCTATCCTTCCGATATTGCCGTGGAGTGGGAATCT AATGGCCAGCCAGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCT GTGCTGGACAGCGATGGGTCCTTCTTTCTGTATTCAAAG CTGACAGTGGACAAAAGCAGATGGCAGCAGGGAAACGT CTTTAGCTGTTCCGTGATGCACGAAGCCCTGCACAATCA TTACACCCAGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCTGGCAAA
198	21115	EVQLVESGGGLIQPGGSLRISCAVSGFSLTTYAISWVRQAPG KGLEWLGIIWPGGGTNYADSLKGRLTISKDNSKNTVYLQM NSLRTEDTAVYYCARGAGTWYFDVWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS

		NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
199	21115	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGCGGCGGCCTGATCCA GCCAGGAGGCTCCCTGAGGATCTCTTGCGCCGTGTCTGG CTTTAGCCTGACCACATACGCAATCTCTTGGGTGCGCCA GGCCCCCGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGAATCATCT GGCCTGGAGGAGGAACCAACTACGCAGACTCTCTGAAG GGCAGACTGACCATCAGCAAGGATAACTCCAAGAATAC AGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGCGGACCGAGGACAC AGCCGTGTACTATTGTGCCCGGGGGGCAGGGACATGGTA TTTCGACGTGTGGGGACAGGGCACCCTGGTGACAGTGAG CTCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGC CCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCT GGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGAC CGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCA CACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTC CCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTA

		CACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCA GGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGA GAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGA TGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAA ATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGT GATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGA GCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
200	18556	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYAISWVRQPPG KGLEWLGVIWPGGGTNYNSALKSRLSISKDNSKSQVFLKM NSLQTDDTARYYCARGTGTWYFDVWGAGTTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGDIVMTQTPASVEAAVGGTVTIKCQASQSIYSSLAWY QQKPGQSPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTEFTLTISGV QCDDAATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGGGTEVVVKGGG GSGGGGSGGGGSQEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCKASGFTI SNNYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTYYASWAKG RFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCVRGYVGTSNLWG PGTLVTVSS
201	18556	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCTGGACCAGGACTGGTGGC CCCCTCTCAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAGTGAGCGG CTTTTCCCTGACCTCTTACGCAATCTCCTGGGTGCGGCAG CCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTGG

		CCAGGAGGAGGCACAAACTATAATAGCGCCCTGAAGTC CAGGCTGTCTATCAGCAAGGACAACTCCAAGTCTCAGGT GTTCCTGAAGATGAATAGCCTGCAGACCGACGATACAGC CCGGTACTATTGTGCCAGAGGCACCGGCACATGGTACTT TGACGTGTGGGGGGCAGGGACCACAGTGACAGTGAGCT CCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCC CATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGG GCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCG TGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACA CATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCT GTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCAC CCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAA TACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTG ATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGG CCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGA CATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGG TGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACA ATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCT ACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAG GATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAG CAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTC CAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCACAGGTGTACG TGTATCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACAAAGAACCAG GTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTCC GATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAG AACAATTATAAGACCACACCACCCGTGCTGGACTCTGAT GGCAGCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACAGTGGACAA GTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGCAGCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGTC

		CCTGTCTCTGAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGCGATATCGT GATGACCCAGACACCCGCCTCCGTGGAGGCCGCCGTGGG AGGAACCGTGACAATCAAGTGTCAGGCCTCCCAGTCTAT CTACAGCTCCCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCCA GAGCCCAAAGCTGCTGATCTACGACGCCTCCCACCTGGC CTCTGGAGTGCCAAGCCGGTTCAGCGGCTCCAGATATGG CACAGAGTTTACCCTGACAATCTCCGGAGTGCAGTGCGA CGATGCAGCAACCTACTATTGTCAGGGAGGATGGTACTC TAGCGCCGCCACCTATGTGCCTAACACATTCGGCGGCGG CACCGAGGTGGTGGTGAAGGGAGGAGGAGGCTCCGGCG GAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCCAGGAGCAGCTG GTGGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGAGGGCAG CCTGACCCTGACATGCAAGGCCTCCGGCTTTACCATCTCT AACAATTACTATATGTGCTGGGTGCGGCAGGCCCCAGGC AAGGGACTGGAGTGGATCGCCTGCATCTACGGCGGCATC TCTGGCAGGACATACTATGCCAGCTGGGCCAAGGGCCGC TTCACCATCTCCAAGACATCCTCTACCACAGTGACCCTG CAGATGACCTCTCTGACAGCCGCCGATACCGCCACATAC TTTTGCGTGCGGGGCTATGTGGGCACCAGCAATCTGTGG GGCCCTGGCACCCTGGTGACAGTGAGCTCC
202	11011	QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMSVGWIRQP PGKALEWLADIWWDDKKDYNPSLKSRLTISKDTSKNQVVL KVTNMDPADTATYYCARSMITNWYFDVWGAGTTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG

		SFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
203	11011	CAGGTGACACTGAGGGAGAGCGGACCAGCCCTGGTGAA GCCAACCCAGACACTGACCCTGACATGCACCTTCTCCGG CTTTAGCCTGTCCACATCTGGCATGTCTGTGGGCTGGATC AGACAGCCACCTGGCAAGGCCCTGGAGTGGCTGGCCGA CATCTGGTGGGACGATAAGAAGGATTACAACCCTAGCCT GAAGTCCAGACTGACAATCTCTAAGGACACCAGCAAGA ACCAGGTGGTGCTGAAGGTGACCAATATGGACCCCGCCG ATACAGCCACCTACTATTGTGCCCGGTCCATGATTACTA ACTGGTATTTTGATGTCTGGGGGGCAGGAACAACCGTGA CCGTCTCTTCTGCTAGCACTAAGGGGCCTTCCGTGTTTCC ACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGC TGCACTGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACC AGTCACAGTGAGTTGGAACTCAGGGGCTCTGACAAGTGG AGTCCATACTTTTCCCGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGACT GTACTCCCTGTCCTCTGTGGTCACCGTGCCTAGTTCAAGC CTGGGCACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAG CCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCCAA GAGCTGTGATAAAACTCATACCTGCCCACCTTGTCCGGC GCCAGAGGCTGCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTTCCCGAACCCC CGAAGTCACATGCGTGGTCGTGTCTGTGAGTCACGAGGA CCCTGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGA GGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGGGAGGAACAGT ACAACTCAACCTATCGCGTCGTGAGCGTCCTGACAGTGC TGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCCTATCGAGAAA ACCATTTCCAAGGCTAAAGGGCAGCCTCGCGAACCACAG GTCTACGTGTATCCTCCAAGCCGGGACGAGCTGACAAAG

		AACCAGGTCTCCCTGACTTGTCTGGTGAAAGGGTTTTAC CCTAGTGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAG CCAGAGAACAATTATAAGACTACCCCCCCTGTGCTGGAC AGTGATGGGTCATTCGCACTGGTCTCCAAGCTGACAGTG GACAAATCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTTTCATGT AGCGTGATGCATGAAGCACTGCACAACCATTACACCCAG AAGTCACTGTCACTGTCACCAGGA
204	2871	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQM PGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVD HKPSNTKVDKTVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K
205	2871	GAAGTGCAGCTGGTCCAGTCCGGAGCCGAGGTGAAGAA ACCCGGCGAATCACTGCGAATCAGCTGCAAGGGCAGCG GCTACAGCTTCTCCACATATTGGATTAGCTGGGTGCGGC AGATGCCTGGGAAGGGACTGGAGTGGATGGGGAAAATC TACCCCGGAGATAGCTACACTAACTATTCTCCTAGTTTTC AGGGCCAGGTGACCATCTCCGCCGACAAGTCAATTAGCA CAGCTTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAAGCTAGCGATA CCGCAATGTACTATTGTGCCAGAGGCTACGGGATTTTCG ACTATTGGGGACAGGGCACACTGGTCACTGTGTCTAGTG CTTCTACAAAGGGGCCCAGTGTGTTTCCACTGGCACCCT GCTCCAGGTCTACCAGTGAATCAACAGCCGCTCTGGGAT

		GTCTGGTGAAAGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACTGTGA GCTGGAACTCCGGCGCACTGACATCTGGGGTCCACACTT TTCCTGCCGTGCTGCAGTCAAGCGGCCTGTACAGCCTGT CCTCTGTGGTCACCGTGCCAAGTTCAAATTTCGGGACTC AGACCTATACATGCAACGTGGACCACAAGCCTTCTAATA CCAAGGTCGATAAAACAGTGGAACCAAAGAGTTGTGAC AAAACTCATACCTGCCCCCCTTGTCCTGCTCCAGAGCTG CTGGGAGGACCATCCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCC AAAGATACACTGATGATCAGCCGCACTCCAGAAGTGACC TGCGTGGTCGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCCGAAGTC AAGTTTAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAAT GCCAAGACCAAACCACGGGAGGAACAGTACAATTCAAC ATATAGAGTCGTGAGCGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGA TTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGTCTAA TAAGGCACTGCCCGCCCCTATCGAGAAAACCATTAGCAA GGCAAAAGGGCAGCCTAGGGAACCACAGGTCTACGTGT ATCCTCCAAGCCGCGATGAGCTGACTAAGAACCAGGTCT CCCTGACCTGTCTGGTGAAAGGGTTCTACCCCAGTGACA TTGCCGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCTGAAAAC AATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGA AGTTTCGCCCTGGTCTCCAAGCTGACTGTGGACAAATCT CGATGGCAGCAGGGCAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCTCTG AGTCTGTCACCTGGCAAA
206	2872	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGDQYAHWYQQKPGQ SPVLVIYQDKNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEA DYYCATYTGFGSLAVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSS EELQANKATLYCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETT TPSKQSNNKYAASSYLSITPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS

207	2872	TCCTATGAACTGACCCAGCCCCCTTCCGTGTCTGTCAGTC CAGGGCAGACAGCCTCCATCACTTGCTCTGGAGACAACA TTGGCGATCAGTACGCTCACTGGTATCAGCAGAAGCCTG GCCAGTCTCCAGTGCTGGTCATCTACCAGGACAAAAATC GGCCCAGTGGGATTCCTGAGAGATTCTCAGGGAGCAACT CCGGAAATACCGCCACACTGACTATCAGCGGGACACAG GCAATGGACGAAGCCGATTACTATTGCGCTACCTATACA GGCTTCGGGTCCCTGGCAGTGTTTGGCGGGGGAACTAAG CTGACCGTGCTGGGACAGCCAAAAGCCGCTCCCTCTGTG ACCCTGTTCCCACCCAGCTCCGAGGAACTGCAGGCTAAC AAGGCAACCCTGTACTGTCTGATCAGCGACTTTTATCCT GGAGCAGTGACAGTCGCCTGGAAGGCTGATTCTAGTCCT GTGAAAGCTGGCGTCGAGACCACAACTCCATCAAAGCA GAGCAACAACAAGTACGCAGCCTCAAGCTATCTGAGTAT TACTCCCGAACAGTGGAAGTCACACAGGTCTTACAGTTG CCAGGTGACCCATGAGGGCAGCACCGTGGAAAAAACAG TCGCCCCTACTGAGTGTTCC
208	11074	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCKCQLSVGYMHWYQQKPG KAPKLLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFA TYYCFQGSGYPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
209	11074	GATATTCAGATGACCCAGTCTCCCAGCACACTGTCCGCC TCTGTGGGCGACCGGGTGACCATCACATGCAAGTGTCAG CTGAGCGTGGGCTACATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCC GGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGATACCAGCAAG CTGGCCTCCGGCGTGCCATCTAGATTCAGCGGCTCCGGC TCTGGCACCGAGTTTACCCTGACAATCAGCTCCCTGCAG CCCGACGATTTCGCCACATACTATTGCTTTCAGGGGAGC

		GGCTACCCATTCACATTCGGAGGGGGAACTAAACTGGAA ATCAAGAGGACCGTCGCGGCGCCCAGTGTCTTCATTTTT CCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGCCAGT GTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGAGGCT AAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCCGG AAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCAAAAG ATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTGAGCA AGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGAA GTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATCA TTCAACAGAGGGGAGTGC
210	11082	QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMSVGWIRQP PGKALEWLADIWWDDKKDYNPSLKSRLTISKDTSKNQVVL KVTNMDPADTATYYCARSMITNWYFDVWGAGTTVTVSSV EGGSGGSGGSGGSGGVDDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCK CQLSVGYMHWYQQKPGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRFSGS GSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCFQGSGYPFTFGGGTKLEIK AAEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
211	11082	CAGGTGACCCTGAGAGAGAGCGGACCCGCCCTGGTGAA GCCTACCCAGACACTGACCCTGACATGCACCTTCAGCGG CTTTAGCCTGTCCACCTCTGGCATGTCCGTGGGATGGATC AGGCAGCCACCTGGCAAGGCCCTGGAGTGGCTGGCCGA CATCTGGTGGGACGATAAGAAGGATTACAACCCTTCCCT GAAGTCTCGCCTGACAATCTCCAAGGACACCTCTAAGAA CCAGGTGGTGCTGAAGGTGACCAATATGGACCCAGCCG ATACAGCCACCTACTATTGTGCCCGGTCCATGATCACAA

		ATTGGTATTTCGACGTGTGGGGAGCCGGAACCACAGTGA CCGTGAGCTCCGTGGAGGGAGGCAGCGGAGGCTCCGGA GGCTCTGGAGGCAGCGGAGGAGTGGACGATATCCAGAT GACACAGAGCCCCTCCACCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGA CCGGGTGACAATCACCTGCAAGTGTCAGCTGTCCGTGGG CTACATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCC AAAGCTGCTGATCTACGATACCAGCAAGCTGGCCTCCGG CGTGCCTTCTAGGTTCTCCGGCTCTGGCAGCGGCACAGA GTTTACACTGACCATCTCTAGCCTGCAGCCAGACGATTT CGCCACCTACTATTGCTTTCAGGGCAGCGGCTATCCCTTC ACATTTGGCGGCGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGCCGC CGAGCCTAAGTCCTCTGACAAGACACACACCTGCCCACC CTGTCCGGCGCCAGAGGCAGCAGGAGGACCAAGCGTGT TCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAAGACACCCTGATGATTA GCCGAACCCCTGAAGTCACATGCGTGGTCGTGTCCGTGT CTCACGAGGACCCAGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAACCCCGG GAGGAACAGTACAACAGCACCTATAGAGTCGTGTCCGTC CTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGA ATATAAGTGCAAAGTGTCCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCTAAGGCAAAAGGCCAGCCTCG CGAACCACAGGTCTACGTGCTGCCTCCATCCCGGGACGA GCTGACAAAGAACCAGGTCTCTCTGCTGTGCCTGGTGAA AGGCTTCTATCCATCAGATATTGCTGTGGAGTGGGAAAG CAATGGGCAGCCCGAGAACAATTACCTGACTTGGCCCCC TGTGCTGGACTCTGATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCTAAG CTGACCGTGGATAAAAGTAGGTGGCAGCAGGGAAATGT CTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAAGCCCTGCATAACCA CTACACCCAGAAAAGCCTGTCCCTGTCCCCCGGA
212	8021	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQM

		PGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
213	8021	GAGGTCCAGCTGGTGCAGAGTGGCGCTGAGGTCAAGAA ACCAGGGGAAAGTCTGCGGATCTCATGCAAGGGCAGCG GGTACTCTTTCAGTACTTATTGGATTTCTTGGGTGAGACA GATGCCCGGAAAGGGCCTGGAGTGGATGGGGAAAATCT ACCCCGGAGACTCCTACACCAACTATTCACCTAGCTTTC AGGGCCAGGTCACCATCTCTGCAGACAAGTCCATTTCTA CAGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAAGCCAGCGATA CAGCTATGTACTATTGTGCAAGAGGATACGGCATTTTCG ATTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTCTCATCTG CTAGCACTAAGGGGCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCCCTC TAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAG TTGGAACTCAGGGGCTCTGACAAGTGGAGTCCATACTTT TCCCGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGACTGTACTCCCTGTC CTCTGTGGTCACCGTGCCTAGTTCAAGCCTGGGCACCCA GACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAATAC AAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATA AAACTCATACCTGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAACTGC TGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTA AAGACACCCTGATGATTTCCCGGACTCCTGAGGTCACCT

		GCGTGGTCGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATG CCAAGACCAAACCCCGGGAGGAACAGTACAACTCTACC TATAGAGTCGTGAGTGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGAC TGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAGCAA CAAAGCCCTGCCCGCCCCAATCGAAAAAACAATCTCTAA AGCAAAAGGACAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTCT ACCCCCCATCAAGAGATGAACTGACAAAAAATCAGGTCT CTCTGACATGCCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCGACA TCGCCGTGGAGTGGGAAAGTAACGGCCAGCCCGAGAAC AATTACAAGACCACACCCCCTGTCCTGGACTCTGATGGG AGTTTCGCTCTGGTGTCAAAGCTGACCGTCGATAAAAGC CGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTTAGCTGCTCCGTCATG CACGAAGCCCTGCACAATCACTACACACAGAAGTCCCTG AGCCTGAGCCCTGGC
214	8022	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGDQYAHWYQQKPGQ SPVLVIYQDKNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEA DYYCATYTGFGSLAVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSS EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETT TPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS
215	8022	AGCTATGAACTGACACAGCCACCTAGCGTGTCCGTCTCT CCAGGACAGACTGCATCCATCACCTGCTCTGGCGACAAC ATTGGGGATCAGTACGCCCACTGGTATCAGCAGAAGCCA GGGCAGAGTCCCGTGCTGGTCATCTACCAGGACAAAAAT CGGCCTTCCGGCATCCCCGAGAGATTCAGTGGATCAAAC AGCGGCAATACCGCTACACTGACTATCAGCGGCACCCAG GCCATGGACGAAGCTGATTACTATTGTGCCACCTATACA GGGTTTGGAAGTCTGGCCGTCTTCGGCGGCGGCACCAAA CTGACCGTCCTGGGGCAGCCAAAAGCGGCGCCCAGTGTC

		ACACTGTTTCCCCCTAGCTCCGAGGAACTGCAGGCTAAC AAAGCAACACTGGTGTGTCTGATCAGCGACTTCTACCCT GGAGCTGTGACTGTCGCCTGGAAGGCTGATTCTAGTCCA GTGAAAGCAGGCGTCGAGACCACAACTCCCTCTAAGCA GAGTAACAACAAGTACGCAGCCTCAAGCTATCTGTCACT GACCCCAGAACAGTGGAAGAGCCACCGGAGCTATTCCT GCCAGGTCACTCACGAAGGCTCCACTGTCGAGAAAACCG TCGCTCCCACCGAATGTTCA
216	14395	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYVFSSYWMNWVKQ RPGKGLEWIGRIYPGNGDTNYNGKFKDKATLTADKFSSTA YMQLSNLTSEDSAVYFCASYYELDYWGQGTSVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
217	14395	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCCGGACCAGAGCTGGTGAA GCCTGGGGCCAGCGTGAAGATCAGCTGCAAGGCCTCCG GCTACGTGTTTAGCTCCTATTGGATGAACTGGGTGAAGC AGCGGCCAGGCAAGGGACTGGAGTGGATCGGCAGAATC TACCCCGGCAATGGCGACACAAACTATAATGGCAAGTTC AAGGACAAGGCCACCCTGACAGCCGATAAGTTTTCTAGC ACCGCCTACATGCAGCTGTCTAACCTGACAAGCGAGGAC TCCGCCGTGTACTTCTGTGCCTCTTACTATGAGCTGGATT ATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCCTCTGCTA GCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCATCCTC TAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTGTCT

		GGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTCCTG GAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTTCC CGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCTAG CGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAGAC ATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAATACAAA GGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATAAGA CCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGCCG GAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAGG ACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGACATGCG TGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGT TTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATGCCA AGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCTACCTAT AGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGG CTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAGCAATAA GGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGC CAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACACTCTGCC TCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGGTCAGTCT GACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAGCGATATCGC TGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGAGAACAATTA CAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCAGTTT CTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCACGATG GCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGATGCACGA AGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GTCTCCCGGC
218	1380	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

219	1380	GAACCTAAGAGCAGCGACAAGACTCACACCTGCCCACCT TGTCCAGCACCAGAAGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTC CTGTTTCCACCCAAGCCCAAAGATACCCTGATGATCAGC CGAACACCCGAAGTGACTTGCGTGGTCGTGAGCGTGTCC CACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTCGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCACGGGA GGAACAGTACAACTCTACTTATAGAGTCGTGAGTGTCCT GACCGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGT ATAAGTGCAAAGTGTCTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAA TCGAGAAAACCATTAGTAAGGCTAAAGGGCAGCCCAGG GAACCTCAGGTCTACGTGTATCCTCCAAGTCGCGACGAG CTGACCAAGAACCAGGTCTCACTGACATGTCTGGTGAAA GGATTTTACCCTTCCGATATTGCAGTGGAGTGGGAATCT AATGGCCAGCCAGAGAACAATTATAAGACCACACCCCCT GTGCTGGACAGCGATGGGTCCTTCGCACTGGTCTCAAAG CTGACAGTGGACAAAAGCAGATGGCAGCAGGGAAACGT CTTTAGCTGTTCCGTGATGCACGAAGCCCTGCACAATCA TTACACTCAGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCTGGCAAA
220	8056	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
221	8056	GAACCTAAATCATCCGATAAAACTCACACCTGTCCACCC TGTCCGGCGCCAGAACTGCTGGGGGGGCCCTCCGTCTTC CTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACCCTGATGATCTCT AGGACTCCCGAAGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGTGAGT CACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAT GGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACCAAACCCCGGGA

		GGAACAGTACAACAGCACCTATAGAGTCGTGTCCGTCCT GACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGT ATAAGTGCAAAGTGTCAAATAAGGCCCTGCCCGCTCCTA TCGAGAAAACCATTAGCAAGGCTAAAGGCCAGCCTCGC GAACCCCAGGTCTACGTGTATCCCCCTAGCCGCGACGAG CTGACAAAGAACCAGGTCTCCCTGACTTGTCTGGTGAAA GGGTTTTACCCTAGTGATATCGCAGTGGAGTGGGAATCA AATGGACAGCCAGAAAACAATTATAAGACCACACCACC CGTGCTGGACAGCGATGGCTCCTTCGCACTGGTCTCCAA GCTGACTGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGT CTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCA TTACACACAGAAGTCTCTGAGCTTAAGCCCTGGA
222	10619	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCRASGYIFTESGITWVRQA PGQGLEWMGWISGYSGDTKYAQKLQGRVTMTKDTSTTTA YMELRSLRYDDTAVYYCARDVQYSGSYLGAYYFDYWSPG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG
223	10619	CAGGTGCAGCTGGTCCAGTCCGGGGCTGAAGTGAAAAA ACCTGGGGCATCCGTGCGGGTGTCATGTCGGGCAAGCGG GTATATCTTTACTGAGTCTGGAATCACCTGGGTGAGGCA GGCTCCCGGACAGGGACTGGAATGGATGGGATGGATTTC TGGATACAGTGGCGACACAAAGTATGCACAGAAACTGC AGGGCCGCGTCACCATGACAAAGGATACTTCAACCACA

		ACTGCCTACATGGAGCTGCGGAGCCTGAGATATGACGAT ACAGCCGTGTACTATTGCGCCCGGGACGTGCAGTACAGC GGGTCCTACCTGGGGGCATACTACTTCGATTACTGGTCA CCTGGAACTCTGGTCACCGTCTCTTCAGCTAGCACTAAG GGGCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCA CCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATGTCTGGTGAAGG ATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGGAACTCAG GGGCTCTGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGCAGTGC TGCAGTCAAGCGGACTGTACTCCCTGTCCTCTGTGGTCA CCGTGCCTAGTTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATATCT GCAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGAC AAGAAAGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATAAAACTCATAC CTGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCTGCAGGAGGACC AAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACACT GATGATTTCCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTCGT GTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGTCAAGTTCAACTG GTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAA ACCTAGGGAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGTCGT GAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGG CAAAGAATATAAGTGCAAAGTGAGCAATAAGGCCCTGC CCGCTCCTATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAGGGC AGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTGTATCCTCCAAGCC GGGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTCTCCCTGACTTGTC TGGTGAAAGGGTTTTACCCTAGTGATATCGCTGTGGAGT GGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAATTATAAGACT ACCCCCCCTGTGCTGGACAGTGATGGGTCATTCGCACTG GTCTCCAAGCTGACAGTGGACAAATCTCGGTGGCAGCAG GGAAATGTCTTTTCATGTAGCGTGATGCATGAAGCACTG CACAACCATTACACCCAGAAGTCACTGTCACTGTCACCA GGA

224	10620	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCRASGYIFTESGITWVRQA PGQGLEWMGWISGYSGDTKYAQKLQGRVTMTKDTSTTTA YMELRSLRYDDTAVYYCARDVQYSGSYLGAYYFDYWSPG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPS RDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTW PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG
225	10620	CAGGTGCAGCTGGTCCAGTCCGGGGCTGAAGTGAAAAA ACCTGGGGCATCCGTGCGGGTGTCATGTCGGGCAAGCGG GTATATCTTTACTGAGTCTGGAATCACCTGGGTGAGGCA GGCTCCCGGACAGGGACTGGAATGGATGGGATGGATTTC TGGATACAGTGGCGACACAAAGTATGCACAGAAACTGC AGGGCCGCGTCACCATGACAAAGGATACTTCAACCACA ACTGCCTACATGGAGCTGCGGAGCCTGAGATATGACGAT ACAGCCGTGTACTATTGCGCCCGGGACGTGCAGTACAGC GGGTCCTACCTGGGGGCATACTACTTCGATTACTGGTCA CCTGGAACTCTGGTCACCGTCTCTTCAGCTAGCACTAAG GGGCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCA CCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATGTCTGGTGAAGG ATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGGAACTCAG GGGCTCTGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGCAGTGC TGCAGTCAAGCGGACTGTACTCCCTGTCCTCTGTGGTCA CCGTGCCTAGTTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATATCT GCAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGAC AAGAAAGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATAAAACTCATAC

		CTGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCAGCAGGAGGACC AAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAAGACACCCT GATGATTAGCCGAACCCCTGAAGTCACATGCGTGGTCGT GTCCGTGTCTCACGAGGACCCAGAAGTCAAGTTCAACTG GTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AACCCCGGGAGGAACAGTACAACAGCACCTATAGAGTC GTGTCCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAAC GGCAAGGAATATAAGTGCAAAGTGTCCAATAAGGCCCT GCCCGCTCCTATCGAGAAAACCATTTCTAAGGCAAAAGG CCAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTGCTGCCTCCATC CCGGGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTCTCTCTGCTGTG CCTGGTGAAAGGCTTCTATCCATCAGATATTGCTGTGGA GTGGGAAAGCAATGGGCAGCCCGAGAACAATTACCTGA CTTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGGAGTTTCTTTCT GTATTCTAAGCTGACCGTGGATAAAAGTAGGTGGCAGCA GGGAAATGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAAGCCCT GCATAACCACTACACCCAGAAAAGCCTGTCCCTGTCCCC CGGA
226	11150	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
227	11150	GACATCCAGATGACACAGTCCCCAAGCTCCCTGTCCGCC TCTGTGGGCGACAGGGTGACCATCACATGCCGCGCCTCT CAGGATGTGAACACCGCCGTGGCCTGGTACCAGCAGAA GCCAGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACAGCGCCTC CTTCCTGTATTCTGGCGTGCCCAGCCGGTTTTCTGGCAGC AGATCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCTCTAGCCTG

		CAGCCTGAGGATTTTGCCACATACTATTGTCAGCAGCAC TATACCACACCCCCTACCTTCGGCCAGGGCACAAAGGTG GAGATCAAGCGGACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCATT TTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGCC AGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGAG GCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCC GGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCAAA AGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTGAG CAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGA AGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATC ATTCAACAGAGGGGAGTGC
228	20891	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQGISNYLNWYQQKPG KAPKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIA TYYCQQYSKFPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
229	20891	GACATCCAGATGACACAGAGCCCAAGCTCCCTGAGCGCC TCCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACATGCTCTGCCAGC CAGGGCATCTCCAACTACCTGAATTGGTATCAGCAGAAG CCCGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTATACCTCT AGCCTGCACTCCGGCGTGCCTTCTAGGTTTTCCGGCTCTG GCAGCGGCACCGACTTCACCTTTACAATCTCCTCTCTGCA GCCTGAGGATATCGCCACATACTATTGTCAGCAGTACTC TAAGTTCCCATGGACCTTTGGCCAGGGCACAAAGGTGGA GATCAAGCGCACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCATTTT TCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGCCAG TGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGAGGC TAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCCG GAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCAAAA

		GATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTGAGC AAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGA AGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATC ATTCAACAGAGGGGAGTGC
230	20892	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQGISNYLNWYQQKPG KAPKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIA TYYCQQYSKFPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
231	20892	GACATCCAGATGACACAGAGCCCAAGCTCCCTGAGCGCC TCCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACATGCTCTGCCAGC CAGGGCATCTCCAACTACCTGAATTGGTATCAGCAGAAG CCCGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTATACCTCT AGCCTGCACTCCGGCGTGCCTTCTAGGTTTTCCGGCTCTG GCAGCGGAACCGACTACACCCTGACAATCTCCTCTCTGC AGCCTGAGGATATCGCCACATACTATTGTCAGCAGTATT CTAAGTTCCCATGGACCTTTGGCCAGGGCACAAAGCTGG AGATCAAGCGCACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCATTT TTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGCCA GTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGAGG CTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCCG GAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCAAAA GATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTGAGC AAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGA AGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATC ATTCAACAGAGGGGAGTGC
232	20893	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQGISNYLNWYQQKPG KTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIA TYYCQQYSKFPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL

		KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
233	20893	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCTCCCTGAGCGCC TCCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACATGCTCTGCCAGC CAGGGCATCTCCAACTACCTGAATTGGTATCAGCAGAAG CCTGGCAAGACCGTGAAGCTGCTGATCTACTATACATCT AGCCTGCACTCCGGCGTGCCATCTAGGTTTTCCGGCTCTG GCAGCGGAACCGACTACACCCTGACAATCTCCTCTCTGC AGCCAGAGGATATCGCCACATACTATTGTCAGCAGTATT CTAAGTTCCCCTGGACCTTTGGCCAGGGCACAAAGCTGG AGATCAAGCGCACCGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCATTT TTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGCCA GTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGAGG CTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCCG GAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCAAAA GATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTGAGC AAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGA AGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATC ATTCAACAGAGGGGAGTGC
234	20894	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEFGMHWVRQA PGKGLEWVSYISSGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDWVDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS

		KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
235	20894	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGACTGGTGCA GCCAGGAGGCTCCCTGCGGCTGTCTTGCGCAGCCAGCGG CTTCACATTTTCTGAGTTCGGCATGCACTGGGTGAGACA GGCCCCCGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGTCCTACATCAG CTCCGGCGGCTCTACCATCTACTATGCCGACAGCGTGAA GGGCCGGTTTACAATCTCCAGAGATAACGCCAAGAACA GCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGAC ACCGCCGTGTACTATTGTGCCCGCGACTGGGTGGATTAT TGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGCTAGC ACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCATCCTCTA AGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTGTCTGG TGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTCCTGGA ACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTTCCCG CCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCTAGCG TGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAGACAT ATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAATACAAAGG TCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATAAGACC CACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGCCGGA GGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAGGAC ACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGACATGCGTG GTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTT AACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAA GACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCTACCTATA GAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGC TGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAGCAATAAG GCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCC AAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACACTCTGCCT CCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGGTCAGTCTG ACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAGCGATATCGCT

		GTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGAGAACAATTA CAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCAGTTT CTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCACGATG GCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGATGCACGA AGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GTCTCCCGGC
236	20895	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEFGMHWVRQA PGKGLEWVAYISSGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDWVDYWGQGTLLTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
237	20895	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGCA GCCAGGAGGCTCCCTGCGGCTGTCTTGCGCAGCCAGCGG CTTCACATTTTCCGAGTTCGGCATGCACTGGGTGAGACA GGCCCCCGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGGCCTACATCA GCTCCGGCGGCTCCACCATCTACTATGCCGACTCTGTGA AGGGCCGGTTTACAATCAGCAGAGATAACGCCAAGAAC AGCCTGTACCTGCAGATGAACTCTCTGAGGGCCGAGGAC ACCGCCGTGTACTATTGTGCCCGCGACTGGGTGGATTAT TGGGGCCAGGGCACCCTGCTGACAGTGTCTAGCGCTAGC ACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCATCCTCTA AGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTGTCTGG TGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTCCTGGA ACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTTCCCG

		CCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCTAGCG TGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAGACAT ATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAATACAAAGG TCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATAAGACC CACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGCCGGA GGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAGGAC ACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGACATGCGTG GTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTT AACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAA GACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCTACCTATA GAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGC TGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAGCAATAAG GCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCC AAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACACTCTGCCT CCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGGTCAGTCTG ACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAGCGATATCGCT GTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGAGAACAATTA CAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCAGTTT CTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCACGATG GCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGATGCACGA AGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GTCTCCCGGC
238	20896	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEFGMHWVRQA PGKGLEWVAYISSGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAMYYCARDWVDYWGQGTLLTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN

		KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
239	20896	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGCA GCCAGGAGGCTCCCTGCGGCTGTCTTGCGCAGCCAGCGG CTTCACATTTTCCGAGTTCGGCATGCACTGGGTGAGACA GGCCCCCGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGGCCTACATCA GCTCCGGCGGCTCCACCATCTACTATGCCGACTCTGTGA AGGGCCGGTTTACAATCAGCAGAGATAACGCCAAGAAC AGCCTGTACCTGCAGATGAACTCTCTGAGGGCCGAGGAC ACCGCCATGTACTATTGTGCCCGCGACTGGGTGGATTAT TGGGGCCAGGGCACCCTGCTGACAGTGTCTAGCGCTAGC ACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCATCCTCTA AGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTGTCTGG TGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTCCTGGA ACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTTCCCG CCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCTAGCG TGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAGACAT ATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAATACAAAGG TCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATAAGACC CACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGCCGGA GGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAGGAC ACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGTGACATGCGTG GTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTT AACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAA GACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATTCTACCTATA GAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGC TGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGAGCAATAAG GCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCC AAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACACTCTGCCT

		CCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGGTCAGTCTG ACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAGCGATATCGCT GTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGAGAACAATTA CAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCAGTTT CTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCACGATG GCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGATGCACGA AGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GTCTCCCGGC
240	20897	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASENVGSYVSWYQQKPG QAPRLLIYGASNRYTGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCGQSYSYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
241	20897	GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCAGCCACACTGTCTCTG AGCCCAGGAGAGAGGGCCACACTGTCTTGCAAGGCCAG CGAGAACGTGGGCAGCTACGTGTCCTGGTATCAGCAGAA GCCAGGACAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACGGGGCCAG CAATCGGTATACCGGCATCCCCGCAAGATTCTCCGGCTC TGGCAGCGGCACAGACTTTACCCTGACAATCAGCTCCCT GGAGCCTGAGGATTTCGCCGTGTACTATTGTGGCCAGTC CTACTCTTATCCACTGACCTTTGGCGGCGGCACAAAGGT GGAGATCAAGAGGACCGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCAT TTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGC CAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGA GGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGT CCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCA AAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTG AGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGT GAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAA

		ATCATTCAACAGAGGGGAGTGC
242	20898	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASENVGSYVSWYQQKPG QAPRLLIYGASNRYTGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDF AVYYCGQSYSYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
243	20898	GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCAGCCACACTGTCTCTG AGCCCAGGAGAGAGGGCCACACTGTCTTGCAAGGCCAG CGAGAACGTGGGCAGCTACGTGTCCTGGTATCAGCAGAA GCCAGGACAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACGGGGCCAG CAATCGGTATACCGGAGTGCCCGCCAGATTCTCCGGCTC TGGCAGCGGCACAGACTTTACCCTGACAATCAGCTCCCT GGAGCCTGAGGATTTCGCCGTGTACTATTGTGGCCAGTC CTACTCTTATCCACTGACCTTTGGCGGCGGCACAAAGGT GGAGATCAAGAGGACCGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCAT TTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGC CAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGA GGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGT CCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCA AAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTG AGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGT GAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAA ATCATTCAACAGAGGGGAGTGC
244	20899	EIVMTQSPATLSLSPGERVTLSCKASENVGSYVSWYQQKPG QAPRLLIYGASNRYTGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDF AVYYCGQSYSYPLTFGGGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC

245	20899	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCAGCCACACTGTCTCTG AGCCCAGGAGAGAGGGTGACACTGTCTTGCAAGGCCAG CGAGAACGTGGGCAGCTACGTGTCCTGGTATCAGCAGAA GCCAGGACAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACGGGGCCAG CAATCGGTATACCGGAGTGCCCGCCAGATTCTCCGGCTC TGGCAGCGGCACAGACTTTACCCTGACAATCAGCTCCGT GGAGCCTGAGGATTTCGCCGTGTACTATTGTGGCCAGTC CTACTCTTATCCACTGACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCT GGAGCTGAAGAGGACCGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCAT TTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGC CAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGA GGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGT CCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCA AAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTG AGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGT GAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAA ATCATTCAACAGAGGGGAGTGC
246	20900	EIVMTQSPATLSLSPGERVTLSCKASENVGSYVSWYQQKPG QAPRLLIYGASNRYTGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDL AVYYCGQSYSYPLTFGGGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
247	20900	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCAGCCACACTGTCTCTG AGCCCAGGAGAGAGGGTGACACTGTCTTGCAAGGCCAG CGAGAACGTGGGCAGCTACGTGTCCTGGTATCAGCAGAA GCCAGGACAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACGGGGCCAG CAATCGGTATACCGGAGTGCCCGCCAGATTCTCCGGCTC TGGCAGCGGCACAGACTTTACCCTGACAATCAGCTCCGT GGAGCCTGAGGATCTGGCCGTGTACTATTGTGGCCAGTC

		CTACTCTTATCCACTGACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCT GGAGCTGAAGAGGACCGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCAT TTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGC CAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGA GGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGT CCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCA AAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTG AGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGT GAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAA ATCATTCAACAGAGGGGAGTGC
248	20901	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLISYGVHWIRQPPG KGLEWIGVIWSGGSTDYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCARNPLTATVMDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
249	20901	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGACCAGGACTGGTGAA GCCATCTGAGACACTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCCGG CTTTTCTCTGATCAGCTACGGAGTGCACTGGATCAGGCA GCCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGATCGGCGTGATCTG GTCCGGCGGCTCTACCGACTATAACCCCAGCCTGAAGTC CCGCGTGACCATCTCCGTGGATACATCTAAGAATCAGTT CAGCCTGAAGCTGAGCTCCGTGACCGCCGCCGACACAGC CGTGTACTATTGTGCCCGGAACCCTCTGACCGCCACAGT GATGGATTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTC

		TAGCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGC CCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCT GGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGAC CGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCA CACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTC CCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTA CACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCA GGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGA GAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGA TGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAA ATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGT GATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGA GCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
250	20902	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLISYGVHWVRQPP GKGLEWLGVIWSGGSTDYNPSLKSRVTISKDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARNPLTATVMDYWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG

		ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
251	20902	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGACCAGGACTGGTGAA GCCATCTGAGACACTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCCGG CTTTTCTCTGATCAGCTACGGAGTGCACTGGGTGAGGCA GCCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTG GTCCGGAGGCTCTACCGACTATAACCCCAGCCTGAAGTC CCGCGTGACCATCTCCAAGGATACATCTAAGAATCAGTT CAGCCTGAAGCTGAGCTCCGTGACCGCCGCCGACACAGC CGTGTACTATTGTGCCCGGAACCCTCTGACCGCCACAGT GATGGATTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTC TAGCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGC CCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCT GGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGAC CGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCA CACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTC CCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT

		CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTA CACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCA GGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGA GAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGA TGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAA ATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGT GATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGA GCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
252	20903	QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLISYGVHWVRQPPG KGLEWLGVIWSGGSTDYNPSLKSRVTISKDTSKNQVSFKLS SLTAADTAIYYCARNPLTATVMDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
253	20903	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGACCAGGACTGGTGAA GCCATCTGAGACACTGAGCATCACCTGCACAGTGTCCGG CTTTTCTCTGATCAGCTACGGAGTGCACTGGGTGAGGCA GCCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTG GTCCGGAGGCTCTACCGACTATAACCCCAGCCTGAAGTC CCGCGTGACCATCTCCAAGGATACATCTAAGAATCAGGT GAGCTTCAAGCTGAGCTCCCTGACCGCCGCCGACACAGC

		CATCTACTATTGTGCCCGGAACCCTCTGACCGCCACAGT GATGGATTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTC TAGCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGC CCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCT GGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGAC CGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCA CACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTC CCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTA CACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCA GGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGA GAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGA TGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAA ATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGT GATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGA GCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
254	20904	QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLISYGVHWVRQPPG KGLEWLGVIWSGGSTDYNPSLKSRVTISKDNSKNQVSFKLS

		SLTAADTAIYYCARNPLTATVMDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
255	20904	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGACCAGGACTGGTGAA GCCATCTGAGACACTGAGCATCACCTGCACAGTGTCCGG CTTTTCTCTGATCAGCTACGGAGTGCACTGGGTGAGGCA GCCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTG GTCCGGAGGCTCTACCGACTATAACCCCAGCCTGAAGTC CCGCGTGACAATCTCCAAGGATAACTCTAAGAATCAGGT GAGCTTCAAGCTGAGCTCCCTGACCGCCGCCGACACAGC CATCTACTATTGTGCCCGGAATCCTCTGACCGCCACAGT GATGGATTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTC TAGCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGC CCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCT GGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGAC CGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCA CACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTC CCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA

		GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTA CACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCA GGTCAGTCTGACCTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGA GAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGA TGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAA ATCACGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGT GATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGA GCCTGAGCCTGTCTCCCGGC
256	20905	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVGTNVAWFQQKP GKAPKSLIYSASYRDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
257	20905	GACATCCAGATGACACAGTCCCCAAGCTCCCTGTCCGCC TCTGTGGGCGATAGGGTGACCATCACATGCAGAGCCTCT CAGAACGTGGGCACCAATGTGGCCTGGTTTCAGCAGAAG CCCGGCAAGGCCCCTAAGTCCCTGATCTACAGCGCCTCC TATAGGGACTCTGGAGTGCCTAGCCGCTTCTCTGGCAGC GGCTCCGGAACCGACTTTACCCTGACAATCTCTAGCCTG CAGCCTGAGGATTTCGCCACATACTATTGTCAGCAGTAC AACAGCTATCCACTGACCTTTGGCGGCGGCACAAAGGTG GAGATCAAGCGGACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCATT TTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGCC

		AGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGAG GCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCC GGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCAAA AGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTGAG CAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGA AGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATC ATTCAACAGAGGGGAGTGC
258	20906	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVGTNVAWYQQKP GKAPKALIYSASYRDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
259	20906	GACATCCAGATGACACAGTCCCCAAGCTCCCTGTCCGCC TCTGTGGGCGATAGGGTGACCATCACATGCAGAGCCTCT CAGAACGTGGGCACCAATGTGGCCTGGTACCAGCAGAA GCCCGGCAAGGCCCCTAAGGCCCTGATCTACAGCGCCTC CTATAGGGACTCTGGAGTGCCTAGCCGCTTCTCTGGCAG CGGCTCCGGAACCGACTTTACCCTGACAATCTCTAGCCT GCAGCCTGAGGATTTCGCCACATACTATTGTCAGCAGTA CAACTCCTATCCACTGACCTTTGGCGGCGGCACAAAGGT GGAGATCAAGCGGACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCAT TTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGC CAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGA GGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGT CCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCA AAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTG AGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGT GAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAA ATCATTCAACAGAGGGGAGTGC

260	20907	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTVTCRASQNVGTNVAWYQQKP GKAPKALIYSASYRDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPED FATYYCQQYNSYPLTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
261	20907	GACATCCAGATGACACAGTCCCCAAGCTCCCTGTCCGCC TCTGTGGGCGATAGGGTGACCGTGACATGCAGAGCCTCT CAGAACGTGGGCACCAATGTGGCCTGGTACCAGCAGAA GCCCGGCAAGGCCCCTAAGGCCCTGATCTACAGCGCCTC CTATAGGGACTCTGGAGTGCCTAGCCGCTTCTCTGGCAG CGGCTCCGGAACCGACTTTACCCTGACAATCTCTAGCGT GCAGCCTGAGGATTTCGCCACATACTATTGTCAGCAGTA CAACTCCTATCCACTGACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCT GGAGATCAAGCGGACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCAT TTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGC CAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGA GGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGT CCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCA AAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTG AGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGT GAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAA ATCATTCAACAGAGGGGAGTGC
262	20908	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTVTCRASQNVGTNVAWYQQKP GKAPKALIYSASYRDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPED LATYYCQQYNSYPLTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
263	20908	GACATCCAGATGACACAGTCCCCAAGCTCCCTGTCCGCC

		TCTGTGGGCGATAGGGTGACCGTGACATGCAGAGCCTCT CAGAACGTGGGCACCAATGTGGCCTGGTACCAGCAGAA GCCCGGCAAGGCCCCTAAGGCCCTGATCTACAGCGCCTC CTATAGGGACTCTGGAGTGCCTAGCCGCTTCTCTGGCAG CGGCTCCGGAACCGACTTTACCCTGACAATCTCTAGCGT GCAGCCTGAGGATCTGGCCACATACTATTGTCAGCAGTA CAACTCCTATCCACTGACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCT GGAGATCAAGCGGACAGTGGCGGCGCCCAGTGTCTTCAT TTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAGTCTGGGACAGC CAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGA GGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCACTGCAGT CCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACTGAACAGGACTCA AAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTCTG AGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGT GAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAA ATCATTCAACAGAGGGGAGTGC
264	16833	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQM PGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLL CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYTMNW VRQAPGQGLEWMGLITPYNGASSYNQKFRGKATMTVDTS TSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGYDGRGFDYWGQGTL

		VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCSASSSVSYMHWYQQKSGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWSKHPLTFGQGTKL EIK
265	16833	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCAGAGGTGAAGAA GCCAGGCGAGTCCCTGAGGATCTCTTGCAAGGGCAGCGG CTACAGCTTCTCCACCTATTGGATCTCCTGGGTGCGCCAG ATGCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGATGGGCAAGATCTA CCCCGGCGACAGCTACACAAACTATTCTCCTAGCTTTCA GGGCCAGGTGACCATCTCCGCCGATAAGTCCATCTCTAC AGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAGGCCAGCGACAC CGCCATGTACTATTGCGCCAGAGGCTACGGCATCTTCGA TTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGC TAGCACAAAGGGCCCAAGCGTGTTTCCTCTGGCCCCATC CTCTAAGAGCACCTCCGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTG TCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTC CTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATT TCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCT AGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAG ACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCTAATACA AAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGAGCTGTGATAA GACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGC CGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAA GGACACCCTGATGATCTCCAGGACCCCTGAGGTGACATG CGTGGTGGTGTCTGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGA AGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATG CCAAGACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAATTCCACC TATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGAT TGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAA TAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCTAA

		GGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACGTGCT GCCCCCTTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTC TCTGCTGTGCCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTCTGATATC GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAA TTACCTGACATGGCCACCCGTGCTGGACTCCGATGGCTC TTTCTTTCTGTATAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCG CTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCCTGCTCTGTGATGCA CGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTGA GCTTAAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGACAGGTGCAGCTG GTGCAGTCCGGAGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCAG CGTGAAGGTGAGCTGTAAGGCCAGCGGCTACTCCTTCAC AGGCTATACCATGAACTGGGTGCGGCAGGCCCCTGGACA GGGACTGGAGTGGATGGGCCTGATCACACCATACAACG GGGCCAGCTCCTATAATCAGAAGTTTAGGGGCAAGGCCA CCATGACAGTGGACACCAGCACATCCACCGTGTATATGG AGCTGTCTAGCCTGCGCAGCGAGGATACCGCCGTGTACT ATTGCGCCAGAGGCGGATACGACGGCAGAGGCTTCGATT ATTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACCGTGTCCTCTGGAG GAGGAGGCTCCGGCGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGC AGCGACATCCAGATGACACAGTCCCCTAGCTCCCTGTCT GCCAGCGTGGGCGATAGGGTGACAATCACCTGTTCCGCC TCTAGCTCCGTGTCTTACATGCACTGGTATCAGCAGAAG AGCGGCAAGGCCCCAAAGCTGCTGATCTACGATACCTCC AAGCTGGCCTCTGGCGTGCCCAGCAGATTCTCCGGCTCT GGCAGCGGCACAGACTTTACACTGACCATCTCTAGCCTG CAGCCTGAGGATTTCGCCACCTACTATTGTCAGCAGTGG AGCAAGCACCCACTGACATTTGGCCAGGGCACCAAGCTG GAGATCAAG
266	16839	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQM PGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYL

		QWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLL CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGQVQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTGYNIHW VKQAPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYKQKFRGRATLTADTST STVYMELSSLRSEDSAVYYCARGETARATFAYWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC SASQDIGNFLNWYQQKPGKTVKVLIYYTSSLYSGVPSRFSG SGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYSKLPLTFGQGTKLEL K
267	16839	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCAGAGGTGAAGAA GCCAGGCGAGTCCCTGAGGATCTCTTGCAAGGGCAGCGG CTACAGCTTCTCCACCTATTGGATCTCCTGGGTGCGCCAG ATGCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGATGGGCAAGATCTA CCCCGGCGACAGCTACACAAACTATTCTCCTAGCTTTCA GGGCCAGGTGACCATCTCCGCCGATAAGTCCATCTCTAC AGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAGGCCAGCGACAC CGCCATGTACTATTGCGCCAGAGGCTACGGCATCTTCGA TTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGC TAGCACAAAGGGCCCAAGCGTGTTTCCTCTGGCCCCATC CTCTAAGAGCACCTCCGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTG TCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTC CTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATT TCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCT

		AGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAG ACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCTAATACA AAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGAGCTGTGATAA GACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGC CGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAA GGACACCCTGATGATCTCCAGGACCCCTGAGGTGACATG CGTGGTGGTGTCTGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGA AGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATG CCAAGACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAATTCCACC TATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGAT TGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAA TAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCTAA GGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACGTGCT GCCCCCTTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTC TCTGCTGTGCCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTCTGATATC GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAA TTACCTGACATGGCCACCCGTGCTGGACAGCGATGGCTC CTTCTTTCTGTATAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCG CTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCCTGCTCTGTGATGCA CGAGGCCCTGCACAATCACTACACACAGAAGAGCCTGA GCTTAAGCCCTGGAGGAGGAGGAGGACAGGTGCAGCTG GTGCAGAGCGGAGCCGAGGTGGTGAAGCCAGGGGCCAG CGTGAAGATGTCTTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCAC AGGCTATAACATCCACTGGGTGAAGCAGGCCCCTGGACA GGGACTGGAGTGGATCGGAGCCATCTACCCAGGCAATG GCGACACCTCCTATAAGCAGAAGTTTCGGGGCAGAGCCA CCCTGACAGCCGATACCAGCACATCCACCGTGTACATGG AGCTGAGCTCCCTGCGGTCTGAGGACAGCGCCGTGTACT ATTGCGCCAGGGGCGAGACAGCAAGGGCCACCTTCGCCT ATTGGGGACAGGGCACACTGGTGACCGTGTCTAGCGGA

		GGAGGAGGCAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGCGGCGGCGG CTCTGATATCCAGATGACCCAGAGCCCTTCCTCTCTGTCT GCCAGCGTGGGCGACAGGGTGACAATCACCTGTTCCGCC TCTCAGGATATCGGCAACTTCCTGAATTGGTACCAGCAG AAGCCCGGCAAGACAGTGAAGGTGCTGATCTACTATACC AGCTCCCTGTACTCCGGAGTGCCTAGCCGGTTCAGCGGC TCCGGCTCTGGAACAGACTATACACTGACCATCTCTAGC CTGCAGCCAGAGGATTTCGCCACCTACTATTGTCAGCAG TATTCCAAGCTGCCCCTGACATTTGGCCAGGGCACCAAG CTGGAGCTGAAG
268	16840	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQM PGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLL CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDIGNFLNWYQQ KPGKTVKVLIYYTSSLYSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFATYYCQQYSKLPLTFGQGTKLELKGGGGSGGGGSGGG GSQVQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTGYNIHWV KQAPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYKQKFRGRATLTADTSTS TVYMELSSLRSEDSAVYYCARGETARATFAYWGQGTLVT VSS
269	16840	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCAGAGGTGAAGAA GCCAGGCGAGTCCCTGAGGATCTCTTGCAAGGGCAGCGG

		CTACAGCTTCTCCACCTATTGGATCTCCTGGGTGCGCCAG ATGCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGATGGGCAAGATCTA CCCCGGCGACAGCTACACAAACTATTCTCCTAGCTTTCA GGGCCAGGTGACCATCTCCGCCGATAAGTCCATCTCTAC AGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAGGCCAGCGACAC CGCCATGTACTATTGCGCCAGAGGCTACGGCATCTTCGA TTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGC TAGCACAAAGGGCCCAAGCGTGTTTCCTCTGGCCCCATC CTCTAAGAGCACCTCCGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTG TCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTC CTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATT TCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCT AGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAG ACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCTAATACA AAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGAGCTGTGATAA GACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGC CGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAA GGACACCCTGATGATCTCCAGGACCCCTGAGGTGACATG CGTGGTGGTGTCTGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGA AGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATG CCAAGACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAATTCCACC TATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGAT TGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAA TAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCTAA GGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTGTACGTGCT GCCCCCTTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTC TCTGCTGTGCCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTCTGATATC GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAA TTACCTGACATGGCCACCCGTGCTGGACAGCGATGGCTC CTTCTTTCTGTATAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCG

		CTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCCTGCTCTGTGATGCA CGAGGCCCTGCACAATCACTACACACAGAAGAGCCTGA GCTTAAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGCGATATCCAGATG ACCCAGAGCCCAAGCTCCCTGAGCGCCTCCGTGGGCGAC CGGGTGACCATCACATGTTCTGCCAGCCAGGATATCGGC AACTTCCTGAATTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGACA GTGAAGGTGCTGATCTACTATACCTCTAGCCTGTACTCC GGCGTGCCTTCTAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACA GACTATACCCTGACAATCTCCTCTCTGCAGCCTGAGGAT TTCGCCACCTACTATTGCCAGCAGTACAGCAAGCTGCCA CTGACATTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGCTGAAGGG AGGAGGAGGCAGCGGCGGCGGAGGCTCCGGCGGCGGCG GCTCTCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCCGAGGTGG TGAAGCCTGGGGCCAGCGTGAAGATGTCCTGTAAGGCCT CTGGCTACACCTTCACAGGCTATAACATCCACTGGGTGA AGCAGGCCCCTGGACAGGGACTGGAGTGGATCGGAGCC ATCTACCCAGGCAATGGCGACACCTCCTATAAGCAGAAG TTTCGGGGCAGAGCCACCCTGACAGCCGATACCTCCACA TCTACCGTGTACATGGAGCTGAGCTCCCTGCGGTCTGAG GACAGCGCCGTGTACTATTGTGCCAGGGGCGAGACAGC AAGGGCCACCTTCGCCTATTGGGGACAGGGCACACTGGT GACCGTGTCTAGC
270	16841	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQM PGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS

		NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLL CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSDFAMSWV RQAPGKGLEWVATIGRVAFHTYYPDSMKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHRGFDVGHFDFWGQGTLV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRSSETLVHSSGNTYLEWYQQKPGKAPKLLIYRVSNRFSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQGSFNPLTFGQG TKVEIK
271	16841	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCAGAGGTGAAGAA GCCAGGCGAGTCCCTGAGGATCTCTTGCAAGGGCAGCGG CTACAGCTTCTCCACCTATTGGATCTCCTGGGTGCGCCAG ATGCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGATGGGCAAGATCTA CCCCGGCGACAGCTACACAAACTATTCTCCTAGCTTTCA GGGCCAGGTGACCATCTCCGCCGATAAGTCCATCTCTAC AGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAGGCCAGCGACAC CGCCATGTACTATTGCGCCAGAGGCTACGGCATCTTCGA TTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGC TAGCACAAAGGGCCCAAGCGTGTTTCCTCTGGCCCCATC CTCTAAGAGCACCTCCGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTG TCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTC CTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATT TCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCT AGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAG ACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCTAATACA AAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGAGCTGTGATAA GACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGC CGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAA GGACACCCTGATGATCTCCAGGACCCCTGAGGTGACATG

		CGTGGTGGTGTCTGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGA AGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATG CCAAGACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAATTCCACC TATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGAT TGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAA TAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCTAA GGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTGCT GCCACCTAGCCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGT CCCTGCTGTGCCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTCCGATAT CGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACA ATTACCTGACCTGGCCACCCGTGCTGGACTCCGATGGCT CTTTCTTTCTGTATTCTAAGCTGACAGTGGACAAGAGCA GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCCTGCTCTGTGATGC ACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTG AGCTTAAGCCCTGGAGGAGGAGGAGGAGAGGTGCAGCT GGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCAGGCGGCA GCCTGCGCCTGTCCTGTGCCGCCTCTGGCTTCAGCTTTTC CGACTTCGCCATGAGCTGGGTGCGGCAGGCCCCCGGCAA GGGACTGGAGTGGGTGGCCACCATCGGCAGAGTGGCCTT CCACACATACTATCCTGACTCTATGAAGGGCCGGTTTAC CATCAGCAGAGATAACTCCAAGAATACACTGTATCTGCA GATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGATACCGCCGTGTACTA TTGCGCAAGGCACAGAGGCTTTGACGTGGGACACTTCGA TTTTTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGG CGGCGGCGGCTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGAGGAG GCTCCGACATCCAGATGACACAGTCCCCATCTAGCCTGT CTGCCAGCGTGGGCGATAGGGTGACCATCACATGTCGCT CCTCTGAGACCCTGGTGCACAGCTCCGGCAACACATACC TGGAGTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCAAAG CTGCTGATCTACAGGGTGTCTAATCGCTTCAGCGGCGTG

		CCCTCCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGAACCGACTTC ACCCTGACAATCTCTAGCCTGCAGCCAGAGGATTTTGCC ACATACTATTGTTTCCAGGGCAGCTTTAATCCCCTGACCT TCGGCCAGGGCACAAAGGTGGAGATCAAG
272	16843	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQM PGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLL CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGQVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNW VKQSPGQSLEWIGRIHPYDGDTFYNQKFQGKATLTVDKSS NTAHMELLSLTSEDFAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGTTVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCK ASQSVSFAGTSLMHWYHQKPGQQPRLLIYRASNLEAGVPD RFSGSGSKTDFTLTISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGG TKLEIK
273	16843	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCAGAGGTGAAGAA GCCAGGCGAGTCCCTGAGGATCTCTTGCAAGGGCAGCGG CTACAGCTTCTCCACCTATTGGATCTCCTGGGTGCGCCAG ATGCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGATGGGCAAGATCTA CCCCGGCGACAGCTACACAAACTATTCTCCTAGCTTTCA GGGCCAGGTGACCATCTCCGCCGATAAGTCCATCTCTAC AGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAGGCCAGCGACAC CGCCATGTACTATTGCGCCAGAGGCTACGGCATCTTCGA

		TTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGC TAGCACAAAGGGCCCAAGCGTGTTTCCTCTGGCCCCATC CTCTAAGAGCACCTCCGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTG TCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTC CTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATT TCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCT AGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAG ACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCTAATACA AAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGAGCTGTGATAA GACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGC CGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAA GGACACCCTGATGATCTCCAGGACCCCTGAGGTGACATG CGTGGTGGTGTCTGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGA AGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATG CCAAGACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAATTCCACC TATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGAT TGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAA TAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCTAA GGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCCCAGGTGTACGTGCT GCCCCCTTCTAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGA GCCTGCTGTGCCTGGTGAAGGGCTTCTATCCTTCCGATAT CGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCAGAGAACA ATTACCTGACCTGGCCACCCGTGCTGGACAGCGATGGCT CCTTCTTTCTGTATTCTAAGCTGACAGTGGACAAGAGCC GCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCCTGCTCTGTGATGC ACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTG AGCTTAAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGACAGGTGCAGCT GGTGCAGTCCGGAGCCGAGGTGGTGAAGCCTGGGGCCA GCGTGAAGATCTCCTGTAAGGCCTCTGGCTACACCTTCA CAGGCTACTTCATGAACTGGGTGAAGCAGAGCCCAGGCC

		AGTCCCTGGAGTGGATCGGCAGAATCCACCCCTACGACG GCGATACATTCTATAACCAGAAGTTTCAGGGCAAGGCCA CCCTGACCGTGGACAAAAGCTCCAATACCGCCCACATGG AGCTGCTGTCTCTGACAAGCGAGGATTTCGCCGTGTACT ATTGCACCCGGTACGACGGCAGCAGAGCCATGGATTATT GGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTAGCGGCGGC GGCGGCTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGAGGAGGCTC CGACATCGTGCTGACCCAGTCCCCACTGTCTCTGGCCGT GAGCCTGGGCCAGCCTGCCATCATCTCCTGTAAGGCCAG CCAGAGCGTGAGCTTCGCCGGGACCAGCCTGATGCACTG GTACCACCAGAAGCCTGGCCAGCAGCCAAGGCTGCTGAT CTATAGGGCCAGCAATCTGGAGGCCGGAGTGCCAGACC GGTTCAGCGGCTCCGGCTCTAAGACCGACTTCACCCTGA CAATCTCCCCTGTGGAGGCAGAGGATGCAGCAACATACT ATTGTCAGCAGTCTAGAGAGTACCCATATACCTTTGGCG GCGGCACAAAGCTGGAGATCAAG
274	8653	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGTNYVYWYQQFP GTAPKLLIYRSYQRPSGVPDRFSGSKSGSSASLAISGLQSED EADYYCATWDDSLDGWVFGGGTKLTVLRQPKAAPSVTLF PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG VETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS
275	8653	CAGAGCGTCCTGACTCAGCCTCCCTCCGCCTCCGGAACA CCTGGGCAGAGAGTGACTATCTCCTGTAGCGGATCAAGC TCAAACATTGGAACCAACTACGTGTATTGGTACCAGCAG TTCCCCGGCACAGCTCCTAAGCTGCTGATCTATCGGAGC TACCAGAGACCAAGCGGGGTCCCCGACAGGTTTTCTGGC AGTAAATCAGGGAGCTCCGCCAGCCTGGCTATTTCCGGC CTGCAGTCTGAGGACGAAGCAGATTACTATTGCGCCACC TGGGACGATTCCCTGGATGGATGGGTCTTCGGCGGCGGC

		ACAAAACTGACCGTCCTGAGGCAGCCAAAGGCGGCGCC CAGTGTCACACTGTTTCCCCCTAGCTCCGAGGAACTGCA GGCTAACAAAGCAACACTGGTGTGTCTGATCAGCGACTT CTACCCTGGAGCTGTGACTGTCGCCTGGAAGGCTGATTC TAGTCCAGTGAAAGCAGGCGTCGAGACCACAACTCCCTC TAAGCAGAGTAACAACAAGTACGCAGCCTCAAGCTATCT GTCACTGACCCCAGAACAGTGGAAGAGCCACCGGAGCT ATTCCTGCCAGGTCACTCACGAAGGCTCCACTGTCGAGA AAACCGTCGCTCCCACCGAATGTTCA
276	14413	DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSNKSLLHSDGITYLFWYL QRPGQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLRISRVE AEDVGVYYCAQMVEFPRTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
277	14413	GACATCGTGATGACACAGGCCGCCTTTAGCAACCCCGTG ACCCTGGGCACAAGCGCCTCCATCTCTTGCCGGAGCAAT AAGTCCCTGCTGCACTCCGATGGCATCACCTACCTGTTCT GGTATCTGCAGAGGCCCGGCCAGTCTCCTCAGCTGCTGA TCTACCGCATGTCTAACCTGGCCAGCGGAGTGCCTGACC GGTTCAGCGGCTCCGGCTCTGGAACCGACTTCACCCTGC GGATCTCCAGAGTGGAGGCCGAGGACGTGGGCGTGTAC TATTGTGCCCAGATGGTGGAGTTCCCAAGAACCTTTGGC GGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGGACAGTGGCGGC GCCCAGTGTCTTCATTTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTG AAGTCTGGGACAGCCAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAAC TTCTACCCTAGAGAGGCTAAAGTGCAGTGGAAGGTCGAT AACGCACTGCAGTCCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACT GAACAGGACTCAAAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGC ACACTGACTCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAA

		AGTGTATGCTTGTGAAGTCACCCACCAGGGGCTGAGTTC ACCAGTCACAAAATCATTCAACAGAGGGGAGTGC
278	8656	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCRASGYIFTESGITWVRQA PGQGLEWMGWISGYSGDTKYAQKLQGRVTMTKDTSTTTA YMELRSLRYDDTAVYYCARDVQYSGSYLGAYYFDYWSPG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG
279	8656	CAGGTGCAGCTGGTCCAGTCCGGGGCTGAAGTGAAAAA ACCTGGGGCATCCGTGCGGGTGTCATGTCGGGCAAGCGG GTATATCTTTACTGAGTCTGGAATCACCTGGGTGAGGCA GGCTCCCGGACAGGGACTGGAATGGATGGGATGGATTTC TGGATACAGTGGCGACACAAAGTATGCACAGAAACTGC AGGGCCGCGTCACCATGACAAAGGATACTTCAACCACA ACTGCCTACATGGAGCTGCGGAGCCTGAGATATGACGAT ACAGCCGTGTACTATTGCGCCCGGGACGTGCAGTACAGC GGGTCCTACCTGGGGGCATACTACTTCGATTACTGGTCA CCTGGAACTCTGGTCACCGTCTCTTCAGCTAGCACCAAG GGCCCTTCTGTGTTTCCACTGGCACCCTCAAGCAAAAGC ACCTCCGGAGGAACAGCAGCACTGGGATGTCTGGTCAA GGACTATTTCCCCGAGCCTGTGACCGTCTCATGGAATAG CGGCGCACTGACTAGTGGGGTGCACACCTTTCCCGCCGT CCTGCAGTCCTCTGGGCTGTACAGCCTGAGTTCAGTGGT CACAGTGCCAAGCTCCTCTCTGGGAACTCAGACCTATAT

		CTGCAACGTCAATCATAAACCCAGCAACACAAAGGTCG ACAAGAAAGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATAAAACTCAT ACCTGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAACTGCTGGGAGGA CCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACC CTGATGATTTCCCGGACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTC GTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAAC TGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACC AAACCCCGGGAGGAACAGTACAACTCTACCTATAGAGTC GTGAGTGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAGCAACAAAGCCCT GCCCGCCCCAATCGAAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAG GACAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTCTACCCCCCAT CAAGAGATGAACTGACAAAAAATCAGGTCTCTCTGACAT GCCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCGACATCGCCGTGG AGTGGGAAAGTAACGGCCAGCCCGAGAACAATTACAAG ACCACACCCCCTGTCCTGGACTCTGATGGGAGTTTCGCT CTGGTGTCAAAGCTGACCGTCGATAAAAGCCGGTGGCAG CAGGGCAATGTGTTTAGCTGCTCCGTCATGCACGAAGCC CTGCACAATCACTACACACAGAAGTCCCTGAGCCTGAGC CCTGGC
280	4561	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
281	4561	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCTAGCTCCCTGTCCGCTT CTGTGGGCGACAGGGTCACTATCACCTGCCGCGCATCTC AGGATGTGAACACCGCAGTCGCCTGGTACCAGCAGAAG CCTGGGAAAGCTCCAAAGCTGCTGATCTACAGTGCATCA

		TTCCTGTATTCAGGAGTGCCCAGCCGGTTTAGCGGCAGC AGATCTGGCACCGACTTCACACTGACTATCTCTAGTCTG CAGCCTGAGGATTTTGCCACATACTATTGCCAGCAGCAC TATACCACACCCCCTACTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTG GAGATCAAGCGAACTGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCATT TTTCCACCCAGCGACGAACAGCTGAAATCCGGCACAGCT TCTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGAGAG GCCAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCTCTGCAGAG TGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACAGAACAGGACTCCA AAGATTCTACTTATAGTCTGTCAAGCACCCTGACACTGA GCAAGGCAGACTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCCTGT GAGGTGACCCATCAGGGGCTGTCTTCTCCCGTGACCAAG TCTTTCAACCGAGGCGAATGT
282	8659	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCRASGYIFTESGITWVRQA PGQGLEWMGWISGYSGDTKYAQKLQGRVTMTKDTSTTTA YMELRSLRYDDTAVYYCARDVQYSGSYLGAYYFDYWSPG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPS RDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTW PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG
283	8659	CAGGTGCAGCTGGTCCAGTCCGGGGCTGAAGTGAAAAA ACCTGGGGCATCCGTGCGGGTGTCATGTCGGGCAAGCGG GTATATCTTTACTGAGTCTGGAATCACCTGGGTGAGGCA GGCTCCCGGACAGGGACTGGAATGGATGGGATGGATTTC TGGATACAGTGGCGACACAAAGTATGCACAGAAACTGC

		AGGGCCGCGTCACCATGACAAAGGATACTTCAACCACA ACTGCCTACATGGAGCTGCGGAGCCTGAGATATGACGAT ACAGCCGTGTACTATTGCGCCCGGGACGTGCAGTACAGC GGGTCCTACCTGGGGGCATACTACTTCGATTACTGGTCA CCTGGAACTCTGGTCACCGTCTCTTCAGCTAGCACCAAG GGCCCTTCTGTGTTTCCACTGGCACCCTCAAGCAAAAGC ACCTCCGGAGGAACAGCAGCACTGGGATGTCTGGTCAA GGACTATTTCCCCGAGCCTGTGACCGTCTCATGGAATAG CGGCGCACTGACTAGTGGGGTGCACACCTTTCCCGCCGT CCTGCAGTCCTCTGGGCTGTACAGCCTGAGTTCAGTGGT CACAGTGCCAAGCTCCTCTCTGGGAACTCAGACCTATAT CTGCAACGTCAATCATAAACCCAGCAACACAAAGGTCG ACAAGAAAGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATAAAACTCAT ACCTGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAACTGCTGGGAGGA CCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACC CTGATGATTTCCCGGACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTC GTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAAC TGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACC AAACCCCGGGAGGAACAGTACAACTCTACCTATAGAGTC GTGAGTGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAGCAACAAAGCCCT GCCCGCCCCAATCGAAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAG GACAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTGCTGCCCCCTA GCCGCGACGAACTGACTAAAAATCAGGTCTCTCTGCTGT GTCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCGACATCGCCGTGG AGTGGGAAAGTAACGGCCAGCCCGAGAACAATTACCTG ACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGGAGTTTCTTTC TGTATTCAAAGCTGACAGTCGATAAAAGCCGGTGGCAGC AGGGCAATGTGTTCAGCTGCTCCGTCATGCACGAAGCAC TGCACAACCATTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCAC

		CTGGC
284	16855	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQM PGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYTMN WVRQAPGQGLEWMGLITPYNGASSYNQKFRGKATMTVDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGYDGRGFDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCSASSSVSYMHWYQQKSGKAPKLLIYDTSKLASGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWSKHPLTFGQGT KLEIK
285	16855	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCAGAGGTGAAGAA GCCAGGCGAGTCCCTGAGGATCTCTTGCAAGGGCAGCGG CTACAGCTTCTCCACCTATTGGATCTCCTGGGTGCGCCAG ATGCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGATGGGCAAGATCTA CCCCGGCGACAGCTACACAAACTATTCTCCTAGCTTTCA GGGCCAGGTGACCATCTCCGCCGATAAGTCCATCTCTAC AGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAGGCCAGCGACAC CGCCATGTACTATTGCGCCAGAGGCTACGGCATCTTCGA TTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGC TAGCACAAAGGGCCCAAGCGTGTTTCCTCTGGCCCCATC CTCTAAGAGCACCTCCGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTG

		TCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTC CTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATT TCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCT AGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAG ACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCTAATACA AAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGAGCTGTGATAA GACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGC CGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAA GGACACCCTGATGATCTCCAGGACCCCTGAGGTGACATG CGTGGTGGTGTCTGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGA AGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATG CCAAGACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAATTCCACC TATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGAT TGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAA TAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCTAA GGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTGTA TCCTCCAAGCAGAGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGT CCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTTTACCCCTCTGATAT CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACA ATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCT CCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCA GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCCTGCTCTGTGATGC ACGAGGCCCTGCACAATCACTACACACAGAAGAGCCTG AGCTTAAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGACAGGTGCAGCT GGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCA GCGTGAAGGTGTCTTGCAAGGCCTCTGGCTACAGCTTCA CAGGCTATACCATGAACTGGGTGCGGCAGGCCCCCGGAC AGGGACTGGAGTGGATGGGCCTGATCACACCTTACAACG GGGCCAGCTCCTATAATCAGAAGTTTAGGGGCAAGGCCA CCATGACAGTGGACACCTCCACATCTACCGTGTACATGG

		AGCTGTCTAGCCTGCGCTCCGAGGATACCGCCGTGTACT ATTGCGCCAGAGGCGGATACGACGGCAGAGGCTTCGATT ATTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACCGTGTCCTCTGGAG GAGGAGGCAGCGGCGGAGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGC TCTGACATCCAGATGACACAGTCTCCAAGCTCCCTGAGC GCCTCCGTGGGCGATCGGGTGACAATCACCTGTAGCGCC TCTAGCTCCGTGTCCTACATGCACTGGTATCAGCAGAAG TCCGGCAAGGCCCCAAAGCTGCTGATCTATGACACCAGC AAGCTGGCCTCCGGAGTGCCATCTAGGTTCTCTGGCAGC GGCTCCGGCACAGACTTTACACTGACCATCTCTAGCCTG CAGCCTGAGGATTTCGCCACCTACTATTGTCAGCAGTGG AGCAAGCACCCACTGACATTTGGCCAGGGCACCAAGCTG GAGATCAAG
286	16861	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQM PGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGQVQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTGYNIH WVKQAPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYKQKFRGRATLTADTS TSTVYMELSSLRSEDSAVYYCARGETARATFAYWGQGTLV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CSASQDIGNFLNWYQQKPGKTVKVLIYYTSSLYSGVPSRFS GSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYSKLPLTFGQGTKL

		ELK
287	16861	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCAGAGGTGAAGAA GCCAGGCGAGTCCCTGAGGATCTCTTGCAAGGGCAGCGG CTACAGCTTCTCCACCTATTGGATCTCCTGGGTGCGCCAG ATGCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGATGGGCAAGATCTA CCCCGGCGACAGCTACACAAACTATTCTCCTAGCTTTCA GGGCCAGGTGACCATCTCCGCCGATAAGTCCATCTCTAC AGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAGGCCAGCGACAC CGCCATGTACTATTGCGCCAGAGGCTACGGCATCTTCGA TTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGC TAGCACAAAGGGCCCAAGCGTGTTTCCTCTGGCCCCATC CTCTAAGAGCACCTCCGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTG TCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTC CTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATT TCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCT AGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAG ACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCTAATACA AAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGAGCTGTGATAA GACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGC CGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAA GGACACCCTGATGATCTCCAGGACCCCTGAGGTGACATG CGTGGTGGTGTCTGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGA AGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATG CCAAGACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAATTCCACC TATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGAT TGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAA TAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCTAA GGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTGTA TCCTCCAAGCAGAGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGT CCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTTTACCCCTCTGATAT

		CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACA ATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCT CCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCA GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCCTGCTCTGTGATGC ACGAGGCCCTGCACAATCACTACACACAGAAGAGCCTG AGCTTAAGCCCTGGAGGAGGAGGAGGACAGGTGCAGCT GGTGCAGTCTGGAGCCGAGGTGGTGAAGCCAGGGGCCA GCGTGAAGATGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTACACCTTCA CAGGCTATAACATCCACTGGGTGAAGCAGGCCCCCGGAC AGGGACTGGAGTGGATCGGAGCCATCTACCCTGGCAATG GCGACACAAGCTATAAGCAGAAGTTTCGGGGCAGAGCC ACCCTGACAGCCGATACCTCCACATCTACCGTGTACATG GAGCTGAGCTCCCTGCGGTCCGAGGACTCTGCCGTGTAC TATTGCGCCAGGGGCGAGACAGCAAGGGCCACCTTCGCC TATTGGGGACAGGGCACACTGGTGACCGTGTCTAGCGGC GGCGGCGGCTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGAGGAGG CTCCGATATCCAGATGACCCAGTCCCCATCCTCTCTGAG CGCCTCCGTGGGCGACCGGGTGACAATCACCTGTTCTGC CAGCCAGGATATCGGCAACTTCCTGAATTGGTACCAGCA GAAGCCCGGCAAGACAGTGAAGGTGCTGATCTACTATAC CAGCTCCCTGTACAGCGGCGTGCCTTCCAGGTTTTCCGG CTCTGGCAGCGGCACAGACTATACACTGACCATCTCTAG CCTGCAGCCAGAGGATTTCGCCACCTACTATTGTCAGCA GTACAGCAAGCTGCCCCTGACATTTGGCCAGGGCACCAA GCTGGAGCTGAAG
288	16863	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQM PGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH

		KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSDFAMSW VRQAPGKGLEWVATIGRVAFHTYYPDSMKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHRGFDVGHFDFWGQGTL VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRSSETLVHSSGNTYLEWYQQKPGKAPKLLIYRVSNRFSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQGSFNPLTFGQ GTKVEIK
289	16863	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCAGAGGTGAAGAA GCCAGGCGAGTCCCTGAGGATCTCTTGCAAGGGCAGCGG CTACAGCTTCTCCACCTATTGGATCTCCTGGGTGCGCCAG ATGCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGATGGGCAAGATCTA CCCCGGCGACAGCTACACAAACTATTCTCCTAGCTTTCA GGGCCAGGTGACCATCTCCGCCGATAAGTCCATCTCTAC AGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAGGCCAGCGACAC CGCCATGTACTATTGCGCCAGAGGCTACGGCATCTTCGA TTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGC TAGCACAAAGGGCCCAAGCGTGTTTCCTCTGGCCCCATC CTCTAAGAGCACCTCCGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTG TCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTC CTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATT TCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCT AGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAG ACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCTAATACA AAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGAGCTGTGATAA

		GACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGC CGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAA GGACACCCTGATGATCTCCAGGACCCCTGAGGTGACATG CGTGGTGGTGTCTGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGA AGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATG CCAAGACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAATTCCACC TATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGAT TGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAA TAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCTAA GGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTGTA TCCTCCAAGCAGAGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGT CCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTTTACCCCTCTGATAT CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACA ATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCT CCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCA GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCCTGCTCTGTGATGC ACGAGGCCCTGCACAATCACTACACACAGAAGAGCCTG AGCTTAAGCCCTGGAGGAGGAGGAGGAGAGGTGCAGCT GGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCAGGAGGCT CTCTGAGGCTGAGCTGCGCAGCCTCCGGCTTCTCCTTTTC TGACTTCGCCATGTCCTGGGTGCGGCAGGCCCCCGGCAA GGGACTGGAGTGGGTGGCCACCATCGGCAGAGTGGCCTT CCACACATACTATCCTGACTCCATGAAGGGCCGGTTTAC CATCTCTAGAGATAACAGCAAGAATACACTGTACCTGCA GATGAACTCTCTGCGCGCCGAGGATACCGCCGTGTACTA TTGCGCAAGGCACAGAGGCTTTGACGTGGGACACTTCGA TTTTTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGAGCAGCGG AGGAGGAGGCTCCGGCGGCGGAGGCTCTGGAGGAGGAG GCAGCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCATCTAGCCTGA GCGCCTCCGTGGGCGATAGGGTGACCATCACATGTCGCT

		CCTCTGAGACCCTGGTGCACAGCTCCGGCAACACATACC TGGAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAG CTGCTGATCTATAGGGTGTCCAATCGCTTCTCTGGAGTGC CAAGCCGGTTTTCTGGCAGCGGCTCCGGAACCGACTTCA CCCTGACAATCTCTAGCCTGCAGCCAGAGGATTTTGCCA CATACTATTGTTTCCAGGGCTCCTTTAATCCCCTGACCTT CGGCCAGGGCACAAAGGTGGAGATCAAG
290	18512	QVQLQESGPGLVQPTQSLSITCTVSGFSLISYGVHWVRQSP GKGLEWLGVIWSGGSTDYNAAFISRLSISKDNSKSQVFFKM NSLQADDTAIYYCARNPLTATVMDYWGQGTSVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGQEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCTASKFSFSSLYYMC WVRQAPGKGLEWIACVYGGSSGNTYYASWAKGRFTISKA SSTTVTLQLTSLTAADTATYFCARFDVDGSGFNLWGPGTL VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPSSVSAAVGGTVT IKCQASQTIGSSLAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVSSRF RGSGSGTEYTLTISDLECADAATYYCQWTDYGYIYIWAFG GGTEVVVK
291	18512	CAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGACCAGGACTGGTGCA GCCTACACAGTCTCTGAGCATCACCTGCACAGTGTCTGG CTTCAGCCTGATCTCCTACGGAGTGCACTGGGTGAGGCA GTCCCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTG GTCTGGCGGCAGCACCGACTATAACGCCGCCTTTATCTC

		CCGCCTGTCCATCTCTAAGGATAACAGCAAGTCCCAGGT GTTCTTTAAGATGAACAGCCTGCAGGCCGACGATACAGC CATCTACTATTGTGCCCGGAATCCCCTGACCGCCACAGT GATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCTCTGTGACAGTGAG CTCCGCTAGCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGC CCCATCCTCTAAGTCCACCTCTGGAGGAACAGCCGCCCT GGGCTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTGAC CGTGTCCTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCA CACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTC CCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGC ACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCC AATACAAAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTG TGATAAGACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGA GGCCGCCGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCAGAGGT GACATGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCCGA GGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA CAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAATT CTACCTATAGAGTGGTGAGCGTGCTGACAGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGTAAGGTG AGCAATAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTAC GTGTATCCCCCTAGCAGAGACGAGCTGACAAAGAACCA GGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTCT GATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGA GAACAATTACAAGACCACACCACCCGTGCTGGACAGCG ATGGCTCCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACAGTGGACA AGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCG TGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTATACCCAGAAGT CCCTGTCTCTGAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGACAGGAG

		CAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCAGA GGGCTCCCTGACCCTGACATGCACCGCCTCTAAGTTCAG CTTTAGCTCCCTGTACTATATGTGCTGGGTGAGGCAGGC CCCCGGCAAGGGACTGGAGTGGATCGCCTGCGTGTATGG CGGCTCTAGCGGCAACACCTACTATGCCTCCTGGGCCAA GGGCCGCTTCACAATCTCTAAGGCCTCCTCTACCACAGT GACCCTGCAGCTGACAAGCCTGACCGCCGCCGACACAGC CACCTACTTCTGTGCCCGGTTTGACGTGGATGGCTCCGG CTTTAATCTGTGGGGCCCTGGCACACTGGTGACCGTGAG CTCCGGAGGAGGAGGCAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGCG GCGGCGGCTCTGATATCGTGATGACACAGACCCCATCTA GCGTGAGCGCCGCCGTGGGAGGCACAGTGACCATCAAG TGCCAGGCCTCCCAGACCATCGGCTCCTCTCTGGCCTGG TATCAGCAGAAGCCTGGCCAGCCTCCAAAGCTGCTGATC TACAGAGCCTCCACACTGGCCTCTGGCGTGAGCTCCCGG TTCAGAGGCTCCGGCTCTGGAACCGAGTACACACTGACC ATCAGCGACCTGGAGTGCGCAGATGCAGCAACATACTAT TGTCAGTGGACCGATTACGGCTATATCTACATCTGGGCC TTTGGCGGAGGAACCGAGGTGGTGGTGAAG
292	16866	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQM PGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

		GGGGQVELVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQAPGKGLEWMGIIDPGDSRTRYSPSFQGQVTISADKSIST AYLQWSSLKASDTAMYYCARGQLYGGTYMDGWGQGTLV TVSSVEGGSGGSGGSGGSGGVDDIALTQPASVSGSPGQSITI SCTGTSSDIGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIYGVNNRPSGV SNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYDIESATPVF GGGTKLTVL
293	16866	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCAGAGGTGAAGAA GCCAGGCGAGTCCCTGAGGATCTCTTGCAAGGGCAGCGG CTACAGCTTCTCCACCTATTGGATCTCCTGGGTGCGCCAG ATGCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGATGGGCAAGATCTA CCCCGGCGACAGCTACACAAACTATTCTCCTAGCTTTCA GGGCCAGGTGACCATCTCCGCCGATAAGTCCATCTCTAC AGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAGGCCAGCGACAC CGCCATGTACTATTGCGCCAGAGGCTACGGCATCTTCGA TTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGC TAGCACAAAGGGCCCAAGCGTGTTTCCTCTGGCCCCATC CTCTAAGAGCACCTCCGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTG TCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTC CTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATT TCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCT AGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAG ACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCTAATACA AAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGAGCTGTGATAA GACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGC CGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAA GGACACCCTGATGATCTCCAGGACCCCTGAGGTGACATG CGTGGTGGTGTCTGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGA AGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATG CCAAGACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAATTCCACC

		TATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGAT TGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAA TAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCTAA GGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTGTA TCCTCCAAGCAGAGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGT CCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTTTACCCCTCTGATAT CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACA ATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCT CCTTCGCCCTGGTGAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCA GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCCTGCTCTGTGATGC ACGAGGCCCTGCACAATCACTACACACAGAAGAGCCTG AGCTTAAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGACAGGTGGAGCT GGTGCAGTCCGGAGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGCGAGT CTCTGAAGATCAGCTGCAAGGGCTCTGGCTACAGCTTCA CCTCCTATTGGATCGGATGGGTGCGGCAGGCCCCTGGCA AGGGACTGGAGTGGATGGGCATCATCGACCCTGGCGATT CTCGGACAAGATACTCTCCAAGCTTTCAGGGCCAGGTGA CCATCAGCGCCGACAAGTCCATCTCTACAGCCTATCTGC AGTGGAGCTCCCTGAAGGCCAGCGATACCGCCATGTACT ATTGCGCCAGGGGCCAGCTGTACGGAGGAACATATATG GACGGATGGGGACAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAG CGTGGAGGGAGGCTCTGGAGGCAGCGGAGGCTCCGGAG GCTCTGGAGGAGTGGACGATATCGCCCTGACCCAGCCAG CCAGCGTGTCCGGCTCTCCAGGCCAGTCCATCACAATCT CTTGTACCGGCACATCCTCTGATATCGGCGGCTACAACA GCGTGTCCTGGTATCAGCAGCACCCCGGCAAGGCCCCTA AGCTGATGATCTACGGCGTGAACAATAGGCCAAGCGGC GTGTCCAACCGCTTCTCTGGCAGCAAGTCCGGCAATACC GCCAGCCTGACAATCTCCGGACTGCAGGCAGAGGACGA GGCAGATTACTATTGTAGCTCCTATGACATCGAGTCCGC

		CACCCCCGTGTTTGGAGGAGGCACCAAGCTGACAGTGCTG
294	16870	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQMPGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGQVELVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQAPGKGLEWMGIIDPGDSRTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGQLYGGTYMDGWGQGTLVTVSSVEGGSGGSGGSGGSGGVDDIALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIYGVNNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYDIESATPVFGGGTKLTVL
295	16870	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCAGAGGTGAAGAAGCCAGGCGAGTCCCTGAGGATCTCTTGCAAGGGCAGCGGCTACAGCTTCTCCACCTATTGGATCTCCTGGGTGCGCCAGATGCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGATGGGCAAGATCTACCCCGGCGACAGCTACACAAACTATTCTCCTAGCTTTCAGGGCCAGGTGACCATCTCCGCCGATAAGTCCATCTCTACAGCCTATCTGCAGTGGAGCTCCCTGAAGGCCAGCGACACCGCCATGTACTATTGCGCCAGAGGCTACGGCATCTTCGATTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGCTAGCACAAAGGGCCCAAGCGTGTTTCCTCTGGCCCCATC

		CTCTAAGAGCACCTCCGGAGGAACAGCCGCCCTGGGCTG TCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTC CTGGAACTCTGGGGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATT TCCCGCCGTGCTGCAGAGCTCCGGACTGTACTCCCTGTCT AGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGCACCCAG ACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCTAATACA AAGGTCGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGAGCTGTGATAA GACCCACACATGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAGGCCGC CGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAA GGACACCCTGATGATCTCCAGGACCCCTGAGGTGACATG CGTGGTGGTGTCTGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGA AGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATG CCAAGACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAATTCCACC TATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGAT TGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAA TAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCTAA GGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTGCT GCCCCCTTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTC TCTGCTGTGCCTGGTGAAGGGCTTCTATCCTTCTGATATC GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCAGAGAACAA TTACCTGACCTGGCCACCCGTGCTGGACTCCGATGGCTC TTTCTTTCTGTATAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCAG ATGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGCAGCGTGATGCA CGAGGCCCTGCACAATCACTACACACAGAAGTCCCTGAG CTTAAGCCCAGGAGGAGGAGGAGGACAGGTGGAGCTGG TGCAGAGCGGAGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGCGAGAGC CTGAAGATCTCCTGTAAGGGCAGCGGCTACTCCTTCACC TCTTATTGGATCGGATGGGTGCGGCAGGCCCCCGGCAAG GGCCTGGAGTGGATGGGCATCATCGACCCAGGCGATAG CCGGACAAGATACTCCCCCTCTTTTCAGGGCCAGGTGAC

		CATCTCCGCCGACAAGAGCATCTCCACAGCCTATCTGCA GTGGAGCTCCCTGAAGGCCTCCGATACCGCCATGTACTA TTGCGCCAGAGGCCAGCTGTACGGCGGCACATATATGGA CGGATGGGGACAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGT GGAGGGAGGCAGCGGAGGCTCCGGAGGCTCTGGAGGCA GCGGAGGAGTGGACGATATCGCCCTGACCCAGCCCGCCT CTGTGAGCGGCTCCCCTGGCCAGTCTATCACAATCAGCT GTACCGGCACATCCTCTGATATCGGCGGCTACAACTCTG TGAGCTGGTATCAGCAGCACCCTGGCAAGGCCCCAAAGC TGATGATCTACGGCGTGAACAATAGGCCATCCGGCGTGT CTAACCGCTTCTCCGGCTCTAAGAGCGGCAATACCGCCT CCCTGACAATCTCTGGACTGCAGGCAGAGGACGAGGCA GATTACTATTGTAGCTCCTATGATATCGAGAGCGCCACC CCCGTGTTTGGAGGAGGCACCAAGCTGACAGTGCTG
296	11761	QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWVKQ SPGQSLEWIGRIHPYDGDTFYNQKFQGKATLTVDKSSNTAH MELLSLTSEDFAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGTTVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQS VSFAGTSLMHWYHQKPGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSG SGSKTDFTLTISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGTKLEI KAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
297	11761	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTGGTGAA GCCAGGGGCCAGCGTGAAGATCAGCTGCAAGGCCTCCG GCTACACCTTCACAGGCTACTTCATGAACTGGGTGAAGC AGTCTCCTGGCCAGAGCCTGGAGTGGATCGGCAGAATCC

		ACCCATACGACGGCGATACCTTCTATAACCAGAAGTTTC AGGGCAAGGCCACCCTGACAGTGGACAAGAGCTCCAAT ACCGCCCACATGGAGCTGCTGTCCCTGACATCTGAGGAT TTCGCCGTGTACTATTGCACCCGGTACGACGGCTCCAGA GCCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTG TCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGG CGGCGGCGGCAGCGACATCGTGCTGACCCAGAGCCCACT GTCCCTGGCCGTGTCCCTGGGCCAGCCCGCCATCATCTCT TGTAAGGCCTCCCAGAGCGTGAGCTTCGCCGGGACCAGC CTGATGCACTGGTACCACCAGAAGCCCGGCCAGCAGCCC AGACTGCTGATCTATAGGGCCTCCAATCTGGAGGCCGGA GTGCCAGACCGGTTCTCCGGCTCTGGCAGCAAGACCGAC TTCACCCTGACAATCAGCCCTGTGGAGGCAGAGGATGCA GCAACATACTATTGTCAGCAGTCCAGGGAGTACCCATAT ACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGGCGGC CGAGCCTAAAAGTAGCGATAAAACCCATACCTGCCCCCC CTGCCCGGCGCCAGAACTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTT CCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTTC CCGGACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGTGTC TCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGA TGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAACCCCGGG AGGAACAGTACAACTCTACCTATAGAGTCGTGAGTGTCC TGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAG TATAAGTGTAAAGTGAGCAACAAAGCCCTGCCCGCCCCA ATCGAAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAGGACAGCCTCG CGAACCACAGGTCTACGTGCTGCCCCCTAGCCGCGACGA ACTGACTAAAAATCAGGTCTCTCTGCTGTGTCTGGTCAA AGGATTCTACCCTTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAG TAACGGCCAGCCCGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCC TGTGCTGGACTCTGATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAG

		CTGACAGTCGATAAAAGCCGGTGGCAGCAGGGCAATGT GTTCAGCTGCTCCGTCATGCACGAAGCACTGCACAACCA TTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCACCTGGC

Tabela Y1: Sequências

SEQ ID NO:	**Descrição ou número do clone**	**Sequência**
344	12153	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
345	20891	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQGISNYLNWYQQKPG KAPKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIA TYYCQQYSKFPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
346	20898	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASENVGSYVSWYQQKPG QAPRLLIYGASNRYTGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDF AVYYCGQSYSYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
347	21663	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNNYYMCWVRQ APGKGLEWIACIYGGISGRTYYADSAKGRFTISKDSSNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS

		GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
348	21708	EVQLVESGGGLIQPGGSLRISCAVSGFSLTTYAISWVRQAPG KGLEWLGIIWPGGGTNYADSLKGRLTISKDNSKNTVYLQM NSLRTEDTAVYYCARGAGTWYFDVWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLL CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
349	21709	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEFGMHWVRQA PGKGLEWVSYISSGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDWVDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
350	21828	DIVMTQTPASVEAAVGGTVTIKCQASQSIYSSLAWYQQKP GQSPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTEFTLTISGVQSDD AATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGGGTEVVVKGGGGSGG GGSGGGGSQEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCKASGFTISNNY YMCWVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTYYASWAKGRFTIS KTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCVRGYVGTSNLWGPGTL

		VTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
351	22043	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEFGMHWVRQA PGKGLEWVSYISSGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDWVDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
352	22775	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSSLAWYQQKPG KAPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSVQPEDF ATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGGGTKVEVKGGSGGGSGG GSGGGSGGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTIS NNYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTYYADSAKGR FTISKDSSNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCVRGYVGTSNLWG QGTLVTVSSGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF TFSEFGMHWVRQAPGKGLEWVSYISSGGSTIYYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDWVDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVK

		FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
353	22776	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEFGMHWVRQA PGKGLEWVSYISSGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDWVDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSSLAWYQQ KPGKAPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSVQP EDFATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGGGTKVEVKGGSGGG SGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTISNNYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTYYADSA KGRFTISKDSSNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCVRGYVGTSN LWGQGTLVTVSS
354	22777	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEFGMHWVRQA PGKGLEWVSYISSGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDWVDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN

		AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSSLAWYQQ KPGKAPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSVQP EDFATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGGGTKVEVKGGSGGG SGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTISNNYYMCWVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTYYADSA KGRFTISKDSSNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCVRGYVGTSN LWGQGTLVTVSS
355	22782	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGDIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSSLAWYQQKPGKAPKLLIY DASHLASGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQG GWYSSAATYVPNTFGGGTKVEVKGGSGGGSGGGSGGGSG GGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNNYYMC WVRQAPGKGLEWIACIYGGISGRTYYADSAKGRFTISKDSS NTVYLQMNSLRAEDTAVYYCVRGYVGTSNLWGQGTLVT VSS
356	22789	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEFGMHWVRQA PGKGLEWVSYISSGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDWVDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK

		PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGQVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCRASGYIFTESGITWV RQAPGQGLEWMGWISGYSGDTKYAQKLQGRVTMTKDTST TTAYMELRSLRYDDTAVYYCARDVQYSGSYLGAYYFDYW SPGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGQSVLTQPPSASG TPGQRVTISCSGSSSNIGTNYVYWYQQFPGTAPKLLIYRSYQ RPSGVPDRFSGSKSGSSASLAISGLQSEDEADYYCATWDDS LDGWVFGGGTKLTVL
357	22791	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEFGMHWVRQA PGKGLEWVSYISSGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDWVDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSSLAWYQQ KPGKAPKLLIYDASHLASGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSVQP EDFATYYCQGGWYSSAATYVPNTFGGGTKVEVKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[00528] As divulgações de todas as patentes, pedidos de patentes, publicações e entradas de banco de dados referenciadas neste relatório descritivo são especificamente incorporadas por referência em sua totalidade na mesma medida como se cada patente individual, pedido de patente, publicação e entrada de banco de dados fossem especificamente e individualmente indicados para ser incorporado por referência.

[00529] As modificações das modalidades específicas aqui descritas que seriam evidentes para os versados na técnica devem ser incluídas no escopo das seguintes reivindicações.

REIVINDICAÇÕES

1. Construto de anticorpo **caracterizado** pelo fato de que compreende:

a) um primeiro domínio de ligação 4-1BB que se liga a um domínio extracelular 4-1BB (4-1BB ECD), e

b) um primeiro domínio de ligação ao antígeno associado ao tumor (TAA) (domínio de ligação ao antígeno TAA) que se liga a um TAA,

em que o primeiro domínio de ligação 4-1BB e o primeiro domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime.

2. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o primeiro domínio de ligação 4-1BB é um primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB.

3. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB é derivado de um anticorpo agonístico anti-4-1BB.

4. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo fato de que:

a) o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB na forma monovalente tem um K_D para 4-1BB humano entre cerca de 1μM e 100pM; e / ou

b) o construto de anticorpo 4-1BB x TAA se liga a uma ou mais linhagens de células que expressam TAA conforme determinado por citometria de fluxo; e / ou

c) o construto de anticorpo 4-1BB x TAA se liga ao 4-1BB humano conforme medido por SPR e se liga ao TAA conforme medido por SPR; e / ou

d) o construto de anticorpo 4-1BB x TAA estimula a atividade de 4-1BB em células T, conforme medido pela produção de citocinas, na presença de células que expressam TAA; e / ou

e) o construto de anticorpo 4-1BB x TAA se liga a células que expressam 4-1BB e se liga a células que expressam TAA conforme medido por citometria de fluxo; e / ou

f) os construtos de anticorpo 4-1BB x TAA são capazes de estimular a sinalização de 4-1BB em células que expressam 4-1BB na presença de células que expressam TAA.

5. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **caracterizado** pelo fato de que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreende:

a) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 1C3 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 1C3; b) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 1C8 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 1C8; c) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 1G1 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 1G1; d) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 2E8 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 2E8; e) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 3E7 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 3E7; f) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 4E6 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 4E6; g) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 5G8 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 5G8; ou h) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 6B3 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 6B3.

6. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizado** pelo fato de que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB é um domínio de ligação ao antígeno humano ou humanizado.

7. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizado** pelo fato de que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreende:

a) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28726 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28726;

b) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28727 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28727;

c) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85%

idêntica à sequência VH de v28728 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28728;

d) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28730 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28730;

e) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28700 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28700;

f) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28704 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28704;

g) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28705 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28705;

h) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28706 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28706;

i) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28711 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28711;

j) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28712 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28712;

k) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28713 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28713;

l) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28696 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28696;

m) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28697 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL)

que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28697;

n) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28698 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28698;

o) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28701 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28701;

p) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28702 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28702;

q) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28703 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28703;

r) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28707 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28707;

s) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28683 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28683;

t) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28684 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28684;

u) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28685 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28685;

v) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28686 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28686;

w) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28687 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28687;

x) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28688 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28688;

y) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28689 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28689;

z) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28690 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28690;

aa) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28691 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28691;

ab) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28692 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28692;

ac) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28694 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28694; ou

ad) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v28695 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28695;

8. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda um segundo domínio de ligação 4-1BB.

9. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizado** pelo fato de que o segundo domínio de ligação 4-1BB é um segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB.

10. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 9, **caracterizado** pelo fato de que o segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB é o mesmo que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB.

11. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado** pelo fato de que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB e/ou o segundo domínio de ligação

ao antígeno 4-1BB estão em um formato Fab.

12. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, **caracterizado** pelo fato de que o domínio de ligação ao antígeno TAA é um domínio de ligação ao antígeno receptor de folato-α (FRα), um domínio de ligação ao antígeno de Solute Carrier Family 34 Membro 2 (NaPi2b), um domínio de ligação ao antígeno HER2, um domínio de ligação ao antígeno da mesotelina ou um domínio de ligação ao antígeno de Solute Carrier Family 39 Membro 6 (LIV-1).

13. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, **caracterizado** pelo fato de que o construto de anticorpo compreende um segundo domínio de ligação ao antígeno TAA.

14. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizado** pelo fato de que o primeiro e o segundo domínio de ligação ao antígeno TAA se ligam ao mesmo TAA.

15. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, **caracterizado** pelo fato de que o primeiro domínio de ligação ao antígeno TAA é um domínio de ligação ao antígeno FRα.

16. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** pelo fato de que o domínio de ligação ao antígeno FRα compreende: a) um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 8K22 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 8K22; ou b) domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 1H06 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 1H06.

17. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado** pelo fato de que o domínio de ligação FRα é um domínio de ligação ao antígeno humano ou humanizado.

18. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 17, **caracterizado** pelo fato de que o domínio de ligação ao antígeno FRα compreende:

a) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23794 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL)

que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23794;

b) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23795 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23795;

c) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23796 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23796;

d) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23797 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23797;

e) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23798 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23798;

f) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23799 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23799;

g) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23800 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23800;

h) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23801 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23801;

i) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23802 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23802;

j) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23803 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23803;

k) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23804 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23804;

l) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23805 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23805;

m) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23806 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23806;

n) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23807 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23807;

o) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23808 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23808;

p) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23809 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23809;

q) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23810 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23810;

r) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23811 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23811;

s) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23812 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23812;

t) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23813 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23813;

u) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23814 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23814;

v) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85%

idêntica à sequência VH de v23815 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23815;

w) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23816 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23816;

x) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23817 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23817; ou

y) uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23818 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v23818;

19. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 18, **caracterizado** pelo fato de que o domínio de ligação ao antígeno TAA está em um formato scFv.

20. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 18, **caracterizado** pelo fato de que o domínio de ligação ao antígeno TAA está em um formato Fab.

21. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 20, **caracterizado** pelo fato de que o andaime é um construto Fc dimérico tendo um primeiro polipeptídeo Fc e um segundo polipeptídeo Fc, cada polipeptídeo Fc compreendendo uma sequência CH3, ou em que o andaime é um ligante ou um polipeptídeo de albumina.

22. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado** pelo fato de que o andaime é um construto Fc heterodimérico tendo um primeiro polipeptídeo Fc que é diferente do segundo polipeptídeo Fc, e em que as sequências CH3 do primeiro polipeptídeo Fc e do segundo polipeptídeo Fc compreendem substituições de aminoácidos que promover a formação de um Fc heterodimérico.

23. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 22, **caracterizado** pelo fato de que:

a) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T350V_L351Y_F405A_Y407V e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T350V_T366L_K392L_T394W;

b) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos

T350V_T366L_K392M_T394W e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T350V_L351Y_F405A_Y407V;

c) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos L351Y_F405A_Y407V e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T366L_K392M_T394W;

d) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos L351Y_F405A_Y407V e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T366L_K392L_T394W; ou

e) um polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos L351Y_S400E_F405A_Y407V e o outro polipeptídeo Fc compreende as substituições de aminoácidos T366I_N390R_K392M_T394W,

em que a numeração de resíduos está de acordo com o sistema de numeração EU.

24. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 23, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda uma ou mais modificações de aminoácidos que reduzem a função efetora.

25. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 24, **caracterizado** pelo fato de que uma ou mais modificações de aminoácidos são L234A, L235A e D265S, em que a numeração dos resíduos está de acordo com o sistema de numeração EU.

26. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 25, **caracterizado** pelo fato de que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB está ligado ao terminal N do primeiro polipeptídeo Fc e o primeiro domínio de ligação ao antígeno TAA está ligado ao terminal C do primeiro polipeptídeo Fc.

27. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 25, **caracterizado** pelo fato de que o primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB está ligado ao terminal N do primeiro polipeptídeo Fc e o primeiro domínio de ligação ao antígeno TAA está ligado ao terminal C do segundo polipeptídeo Fc

28. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 26 ou 27, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda um segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao terminal N do segundo polipeptídeo Fc.

29. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 25, **caracterizado** pelo fato de que compreende um primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB

ligado ao terminal N do primeiro polipeptídeo Fc, um segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao terminal N do segundo polipeptídeo Fc, um primeiro domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao terminal C do primeiro polipeptídeo Fc e um segundo domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao terminal C do segundo polipeptídeo Fc.

30. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 25, **caracterizado** pelo fato de que compreende um primeiro domínio de ligação ao antígeno 4-1BB ligado ao terminal N do primeiro polipeptídeo Fc ou ao terminal N do segundo polipeptídeo Fc, uma primeira ligação ao antígeno TAA domínio ligado ao terminal C do primeiro polipeptídeo Fc e um segundo domínio de ligação ao antígeno TAA ligado ao terminal C do segundo polipeptídeo Fc.

31. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 30, **caracterizado** pelo fato de que o primeiro e ou o segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreende um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 1G1 e um domínio variável da cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve do anticorpo 1G1, e o primeiro e / ou o segundo domínio de ligação ao antígeno FRα compreende um domínio variável da cadeia pesada compreendendo as três CDRs da cadeia pesada do anticorpo 8K22 e um domínio variável d cadeia leve compreendendo as três CDRs da cadeia leve de anticorpo 8K22.

32. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 31, **caracterizado** pelo fato de que o primeiro e o segundo domínio de ligação ao antígeno 4-1BB compreende uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência de VH de v28614 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VL de v28614, e o primeiro e / ou segundo domínio de ligação ao antígeno FRα compreende uma sequência de domínio variável da cadeia pesada (VH) que é pelo menos 85% idêntica à sequência VH de v23807 e uma sequência de domínio variável da cadeia leve (VL) que é pelo menos 85% idêntica à sequência de VL de v23807.

33. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** pelo fato de que compreende uma primeira sequência polipeptídica da cadeia pesada conforme estabelecido na SEQ ID NO: 353, uma segunda sequência polipeptídica da cadeia pesada conforme estabelecido na SEQ ID NO: 349 e uma sequência polipeptídica da cadeia leve conforme estabelecido na SEQ ID NO: 346.

34. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 33, **caracterizado** pelo fato de que é conjugado a uma droga.

35. Composição farmacêutica **caracterizada** pelo fato de que compreende o construto de anticorpo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 34.

36. Um ou mais ácidos nucleicos **caracterizados** pelo fato de que codificam o construto de anticorpo conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 33.

37. Um ou mais vetores **caracterizados** pelo fato de que compreendem um ou mais ácidos nucleicos conforme definidos na reivindicação 36.

38. Célula isolada **caracterizada** pelo fato de que compreende um ou mais ácidos nucleicos conforme definidos na reivindicação 36, ou um ou mais vetores conforme definidos na reivindicação 37.

39. Método de preparação do construto de anticorpo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 34, **caracterizado** pelo fato de que compreende cultivar a célula isolada conforme definida na reivindicação 38 sob condições adequadas para expressar o construto de anticorpo e purificar o construto de anticorpo.

40. Uso do construto de anticorpo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 34, **caracterizado** pelo fato de que é na preparação de um medicamento para o tratamento do câncer.

41. Construto de anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga especificamente a 4-1BB, **caracterizado** pelo fato de que compreende: uma sequência variável da cadeia pesada compreendendo três CDRs da cadeia pesada e uma sequência variável da cadeia leve compreendendo três CDRs da cadeia leve, em que as CDRs da cadeia pesada e as CDRs da cadeia leve são de qualquer um dos anticorpos 1G1, 1B2, 1C3, 1C8, 2A7, 2E8, 2H9, 3D7, 3H1, 3E7, 3G4, 4B11, 4E6, 4F9, 4G10, 5E2, 5G8 ou 6B3.

42. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 41, **caracterizado** pelo fato de que o construto de anticorpo agoniza 4-1BB.

43. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizado** pelo fato de que compreende uma sequência variável da cadeia pesada (VH) que compreende três CDRs e uma sequência variável da cadeia leve (VL) compreendendo três CDRs, em que as CDRs da cadeia pesada e as CDRs da cadeia leve são de qualquer um dos anticorpos 1G1, 1C3, 1C8, 2E8, 3E7, 4E6, 5G8 ou 6B3.

44. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 43, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno é ou compreende um anticorpo humanizado.

45. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 41 ou 42, **caracterizado** pelo fato de que compreende uma sequência VH e uma sequência VL com pelo menos 85% de identidade de sequência com as sequências VH e VL de qualquer uma das variantes v28726, v28727, v28728, v28730, v28700, v28704, v28705, v28706, v28711, v28712, v28713, v28696, v28697, v28698, v28701, v28702, v28703, v28707, v28683, v28684, v28685, v28686, v28687, v28688, v28689, v28690, v28691, v28692, v28694, ou v28695.

46. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 45, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno tem uma afinidade de ligação (K_D) para uma molécula de 4-1BB humana de cerca de 10 nM a cerca de 500 nM.

47. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 46, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno se liga a um epítopo dentro do domínio extracelular do polipeptídeo 4-1BB humano.

48. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 47, **caracterizado** pelo fato de que o construto de anticorpo inclui domínios constantes de imunoglobulina, em que os domínios constantes são de uma IgG1 ou uma variante da mesma, uma IgG2 ou uma variante da mesma, uma IgG4 ou uma variante da mesma, uma IgA ou uma variante da mesma, uma IgE ou uma variante da mesma, uma IgM ou uma variante da mesma, ou uma IgD ou uma variante da mesma.

49. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 48, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo é ou compreende uma IgG1 humana.

50. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 49, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno é um anticorpo monoclonal.

51. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 47, **caracterizado** pelo fato de que o fragmento de anticorpo é um fragmento Fab, um fragmento Fab′, um fragmento F(ab′)2, um fragmento Fv, um fragmento scFv, um anticorpo de domínio único ou um diacorpo.

52. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 51, **caracterizado** pelo fato de que é conjugado a uma droga.

53. Composição farmacêutica **caracterizada** pelo fato de que compreende o construto de anticorpo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 41 a 52.

54. Um ou mais ácidos nucleicos **caracterizados** pelo fato de que codificam o construto de anticorpo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 41 a 51.

55. Um ou mais vetores **caracterizados** pelo fato de que compreendem um ou mais ácidos nucleicos, conforme definidos na reivindicação 54.

56. Célula isolada **caracterizada** pelo fato de que compreende um ou mais ácidos nucleicos, conforme definidos na reivindicação 54, ou um ou mais vetores, conforme definidos na reivindicação 55.

57. Método de preparação do construto de anticorpo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 41 a 52, **caracterizado** pelo fato de que compreende cultivar a célula isolada, conforme definida na reivindicação 56 sob condições adequadas para expressar o construto de anticorpo e purificar o construto de anticorpo.

58. Uso do construto de anticorpo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 41 a 52, **caracterizado** pelo fato de que é na preparação de um medicamento para o tratamento do câncer.

59. Construto de anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga especificamente a FRα, **caracterizado** pelo fato de que compreende: uma sequência variável da cadeia pesada (VH) compreendendo três CDRs e uma sequência variável da cadeia leve (VL) compreendendo três CDRs, em que as CDRs da cadeia pesada e as CDRs da cadeia leve são do anticorpo 8K22 ou 1H06.

60. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 59, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo é ou compreende um anticorpo humanizado.

61. Construto de anticorpo, de acordo com areivindicação 59 ou 60, **caracterizado** pelo fato de que compreende uma sequência VH e uma sequência VL tendo pelo menos 85% de identidade de sequência para as sequências VH e VL de qualquer uma das variantes 23794, 23795, 23796, 23797, 23798, 23799, 23800, 23801, 23802, 23803, 23804, 23805, 23806, 23807, 23808, 23809, 23810, 23811, 23812, 23813, 23814, 23815, 23816, 23817 ou 23818.

62. Construto de anticorpo, de acordo com a reivindicação 59 ou 60, **caracterizado** pelo fato de que compreende uma sequência VH tendo pelo menos 85% de identidade de sequência com a sequência VH conforme estabelecido na SEQ ID NO: 300 e uma sequência VL tendo pelo menos 85% identidade de sequência com a sequência VL, conforme estabelecido na SEQ ID NO: 301.

63. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 59 a 62, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno tem uma afinidade de ligação (K_D) para uma molécula de FRα humana de entre cerca de 100 pM a cerca de 100 nM.

64. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 59 a 63, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo inclui um domínio constante de imunoglobulina, em que o domínio constante é selecionado de uma IgG1 ou uma variante da mesma, uma IgG2 ou uma variante da mesma, uma IgG4 ou uma variante da mesma, uma IgA ou uma variante da mesma, uma IgE ou uma variante da mesma, uma IgM ou uma variante da mesma e uma IgD ou uma variante da mesma.

65. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 59 a 64, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo é ou compreende uma IgG1 humana.

66. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 59 a 65, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno é um anticorpo monoclonal.

67. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 59 a 66, **caracterizado** pelo fato de que o fragmento de anticorpo é um fragmento Fab, um fragmento Fab′, um fragmento F(ab′)2, um fragmento Fv, um fragmento scFv, um anticorpo de domínio único ou um diacorpo.

68. Construto de anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 59 a 67, **caracterizado** pelo fato de que é conjugado a uma droga.

69. Composição farmacêutica **caracterizada** pelo fato de que compreende o construto de anticorpo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 59 a 68.

70. Um ou mais ácidos nucleicos **caracterizados** pelo fato de que codificam o construto de anticorpo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 59 a 67.

71. Um ou mais vetores **caracterizados** pelo fato de que compreendem um ou mais

ácidos nucleicos, conforme definidos na reivindicação 70.

72. Célula isolada **caracterizada** pelo fato de que compreende um ou mais ácidos nucleicos, conforme definidos na reivindicação 70, ou um ou mais vetores, conforme definidos na reivindicação 71.

73. Método de preparação do construto de anticorpo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 59 a 68, **caracterizado** pelo fato de que compreende cultivar a célula isolada conforme definida na reivindicação 72 sob condições adequadas para expressar o construto de anticorpo e purificar o construto de anticorpo.

74. Uso do construto de anticorpo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 59 a 68, **caracterizado** pelo fato de que é na preparação de um medicamento para o tratamento do câncer.

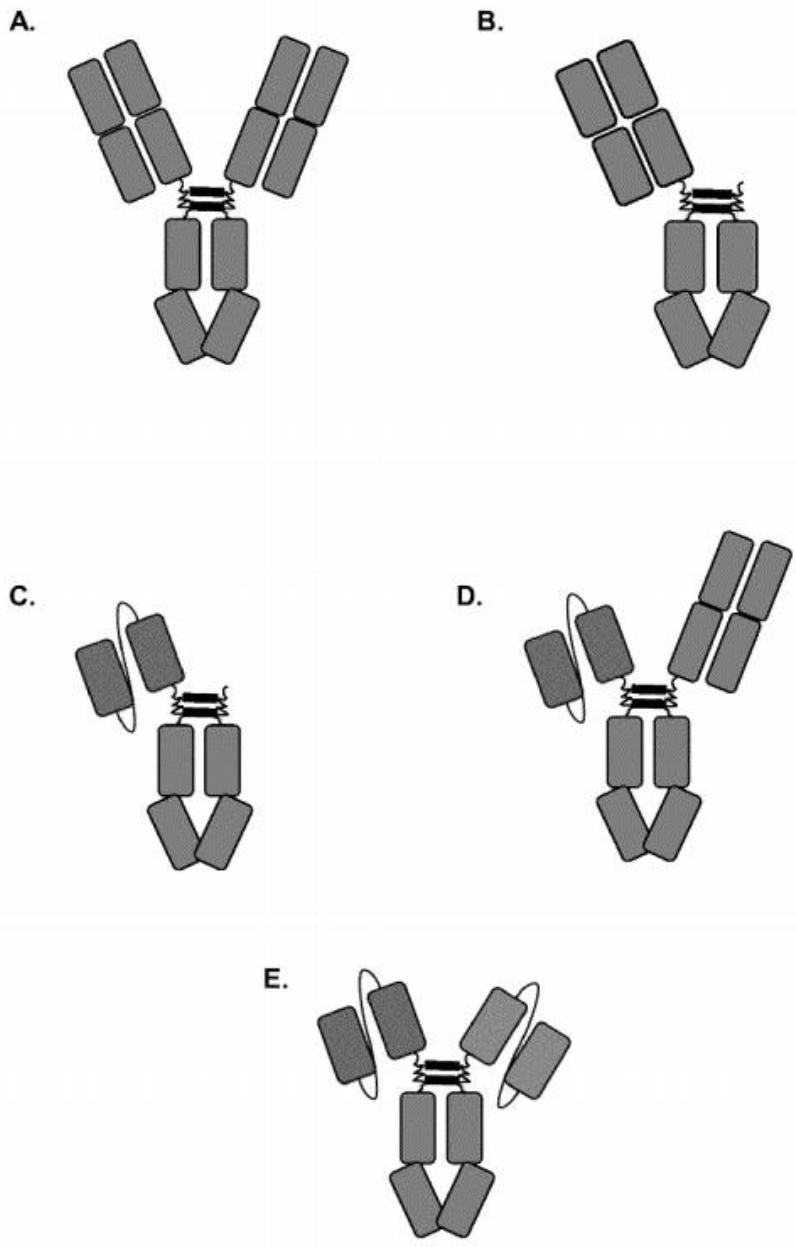


FIG. 1

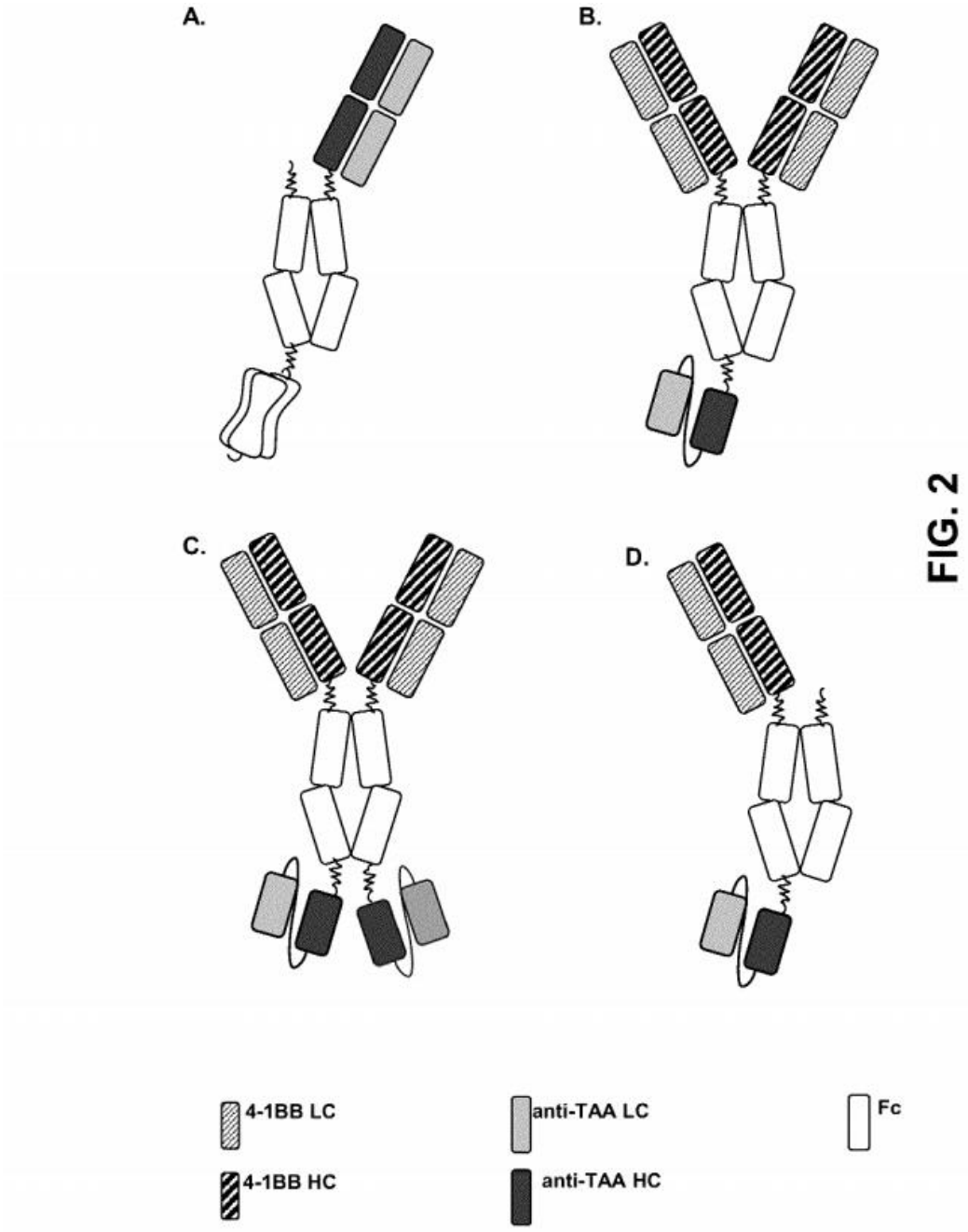


FIG. 2

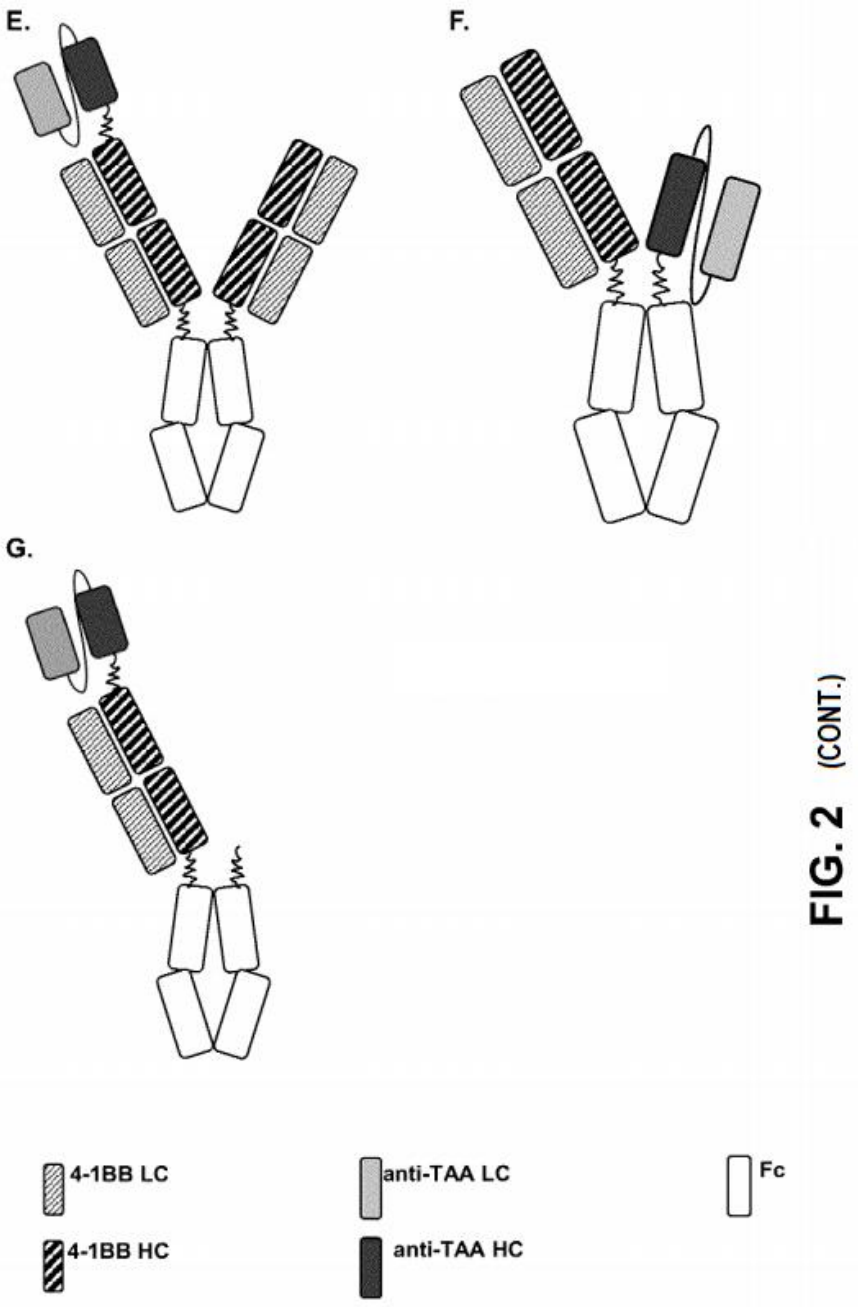


FIG. 2 (CONT.)

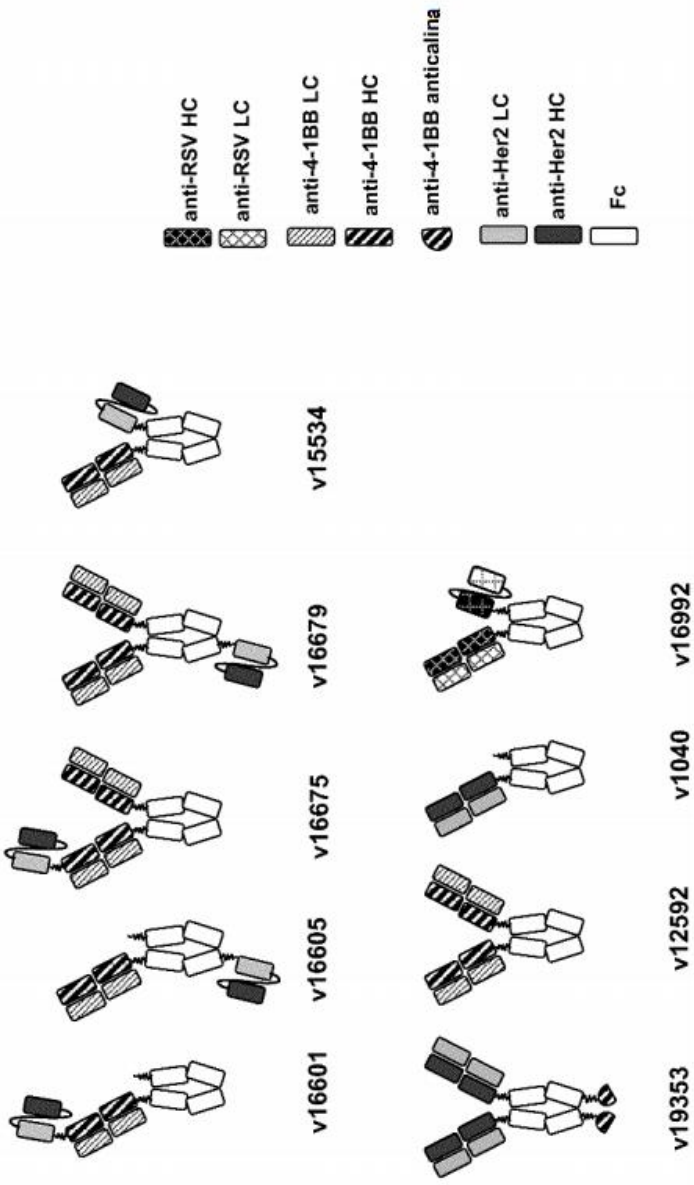

anti-RSV HC
anti-RSV LC
anti-4-1BB LC
anti-4-1BB HC
anti-4-1BB anticalina
anti-Her2 LC
anti-Her2 HC
Fc
v15534
v16679
v16675
v16605
v16601
v16992
v1040
v12592
v19353

FIG. 3

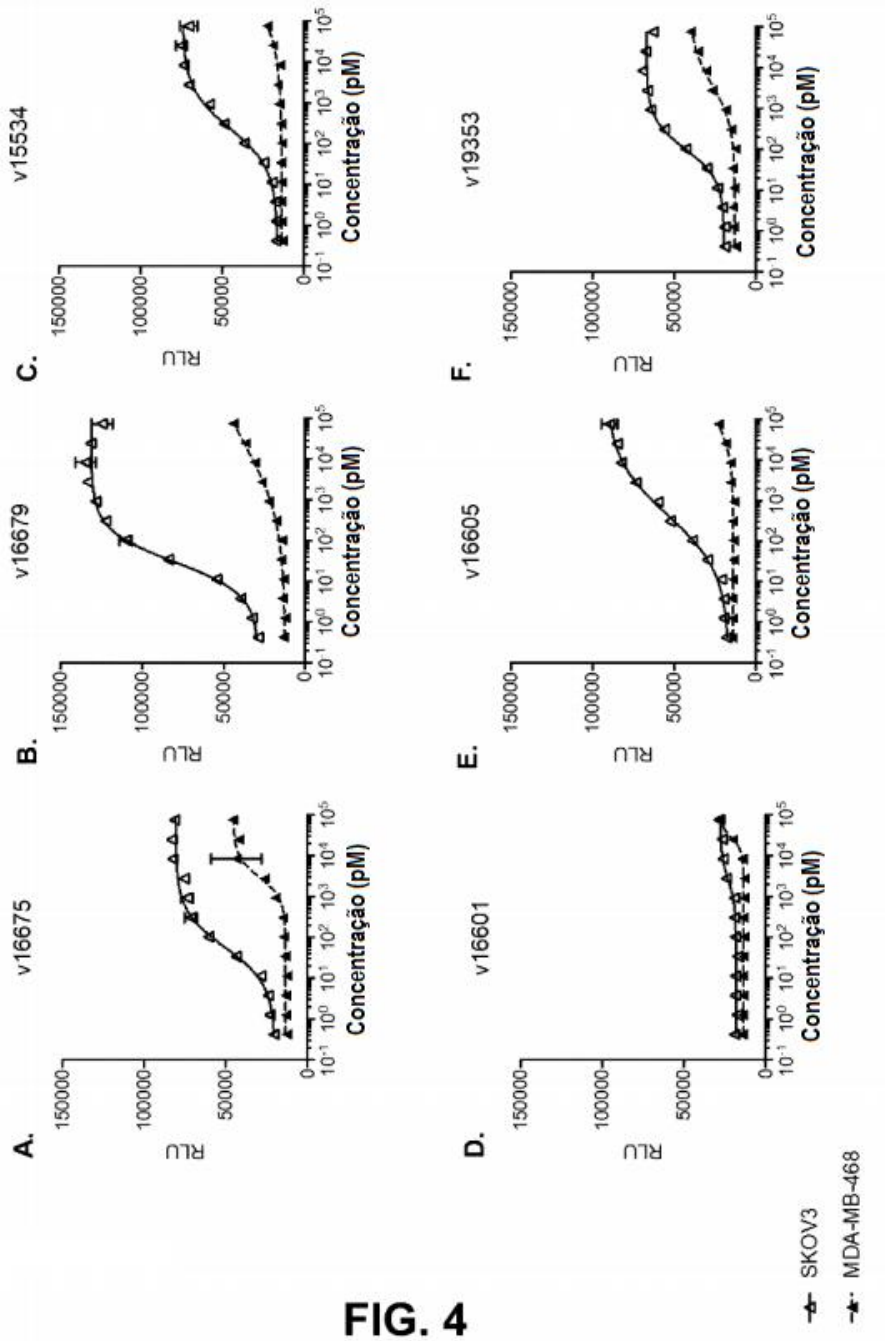

A.
v16675
B.
v16679
C.
v15534
D.
v16601
E.
v16605
F.
v19353
RLU
Concentração (pM)
SKOV3
MDA-MB-468

FIG. 4

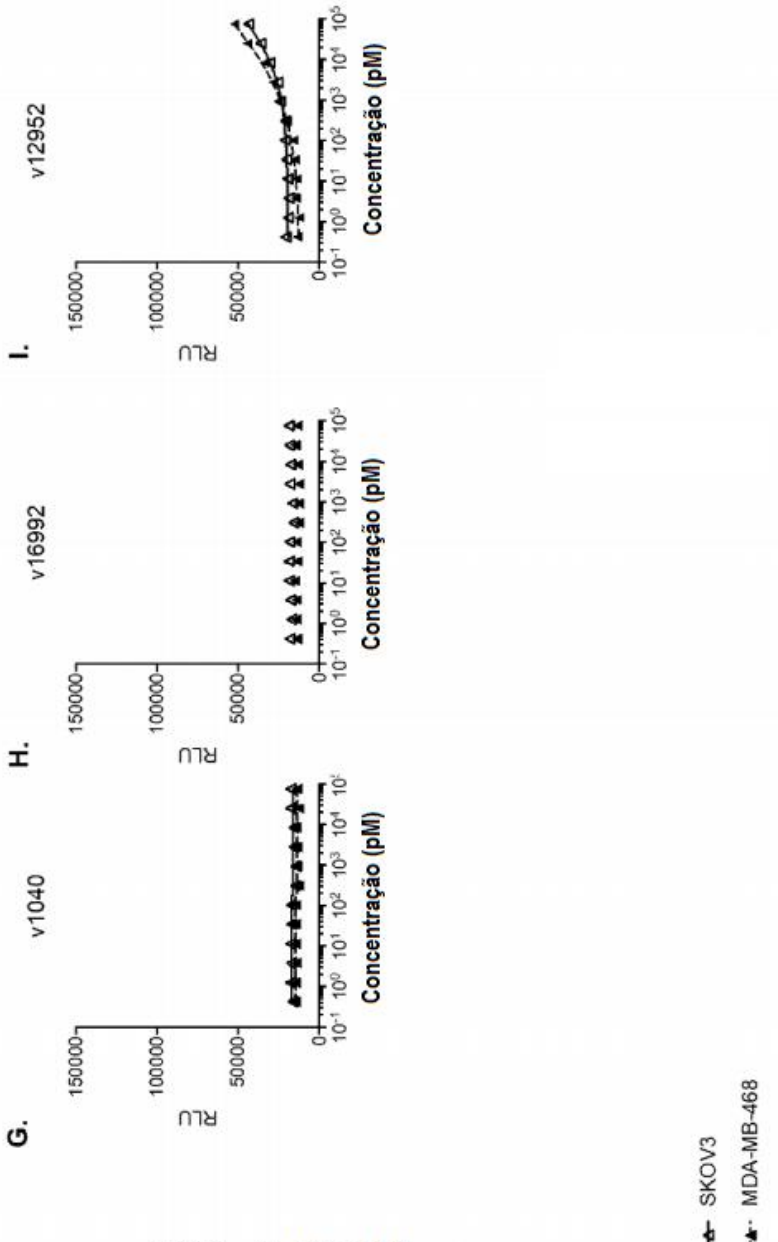

G.
v1040
H.
v16992
I.
v12952
RLU
150000
100000
50000
0
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
Concentração (pM)
SKOV3
MDA-MB-468

FIG. 4 (Cont.)

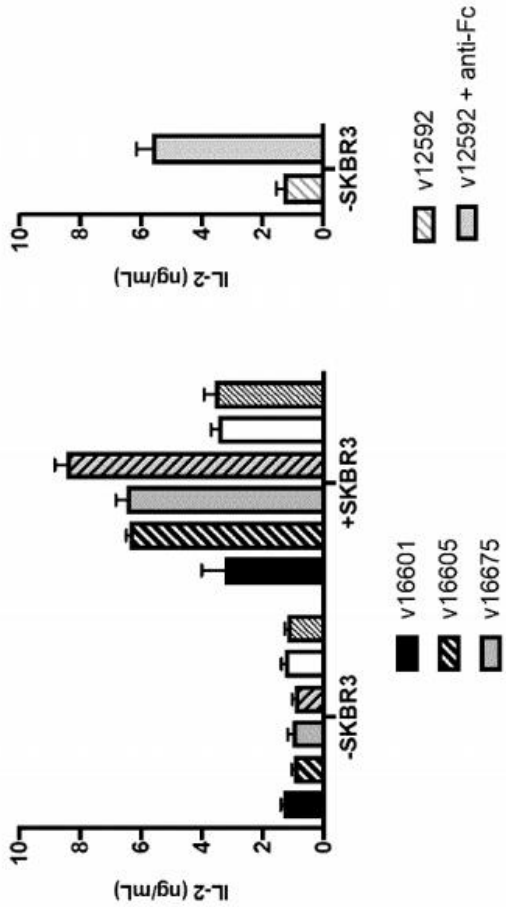

IL-2 (ng/mL)
0
2
4
6
8
10
-SKBR3
+SKBR3
v16601
v16605
v16675
v16679
v1040
hIgG1
v12592
v12592 + anti-Fc

FIG. 5

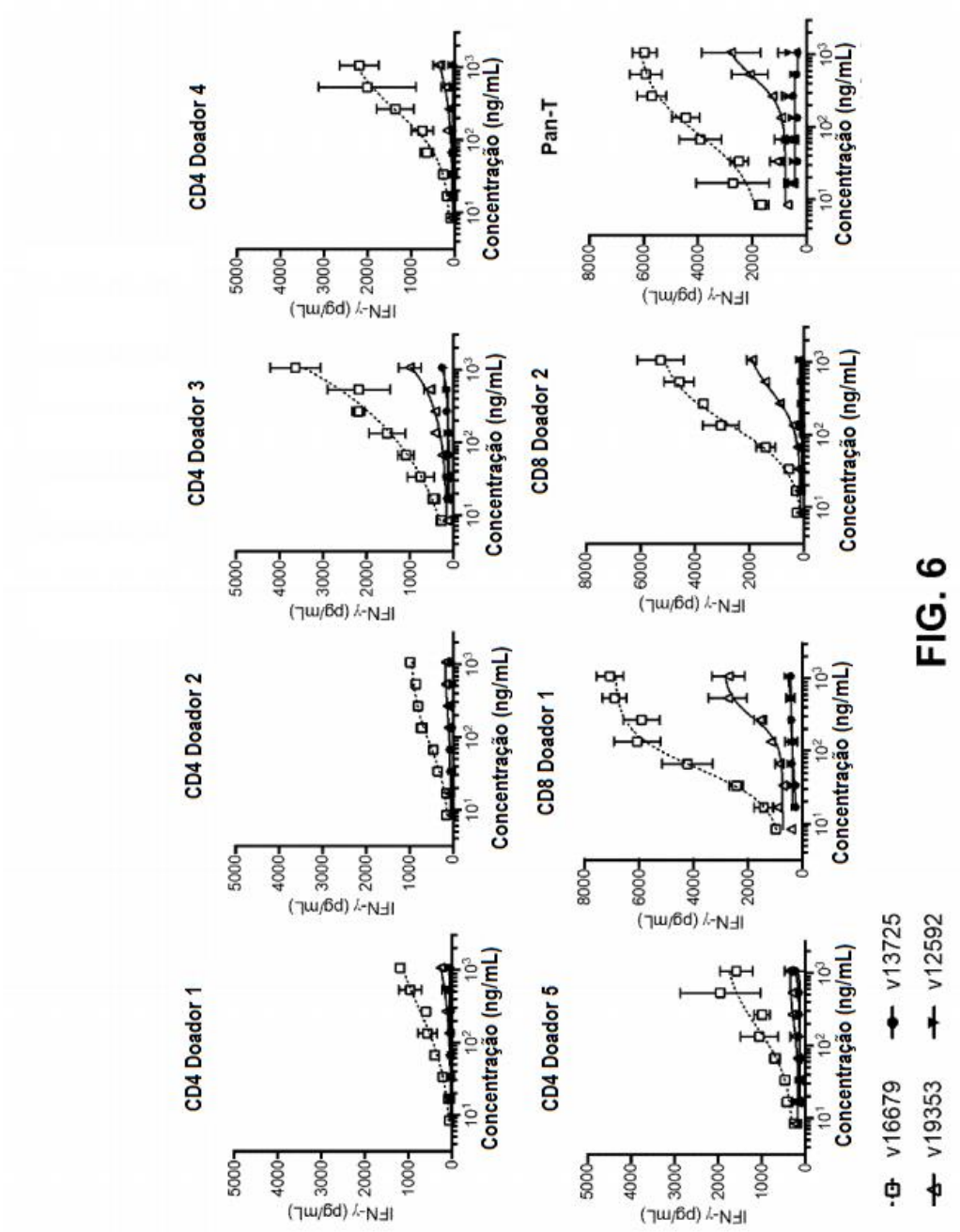

CD4 Doador 1
CD4 Doador 2
CD4 Doador 3
CD4 Doador 4
CD4 Doador 5
CD8 Doador 1
CD8 Doador 2
Pan-T
IFN-γ (pg/mL)
Concentração (ng/mL)
v16679
v13725
v19353
v12592

FIG. 6

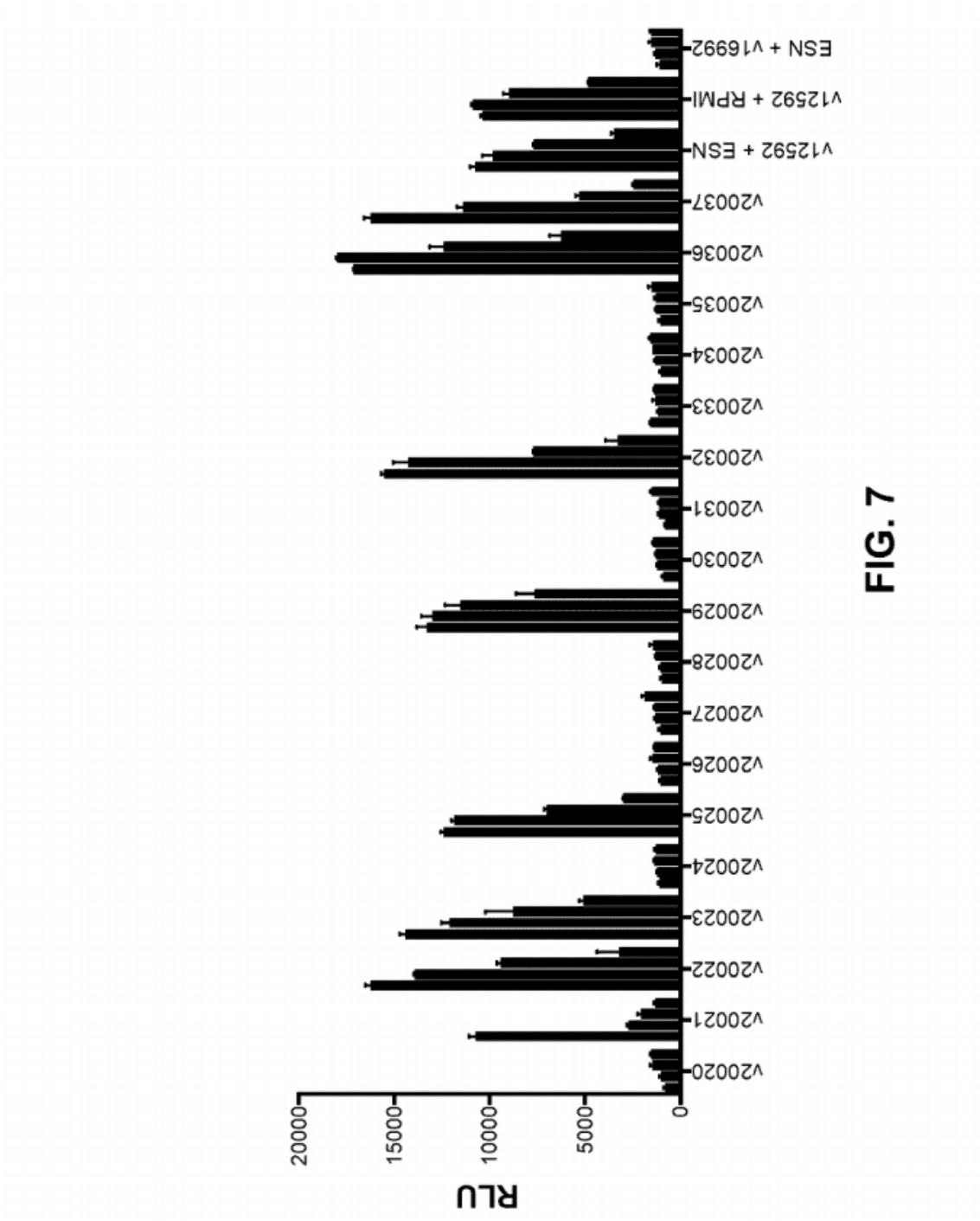

RLU
20000
15000
10000
5000
0
v20020
v20021
v20022
v20023
v20024
v20025
v20026
v20027
v20028
v20029
v20030
v20031
v20032
v20033
v20034
v20035
v20036
v20037
v12592 + ESN
v12592 + RPMI
ESN + v16992

FIG. 7

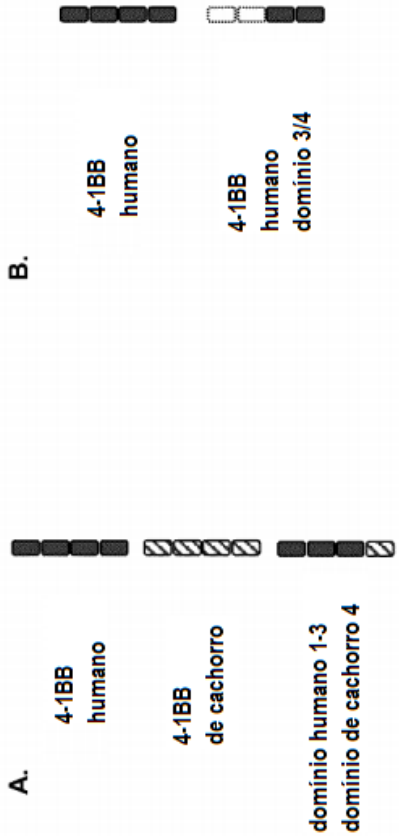

A.
4-1BB humano
4-1BB de cachorro
domínio humano 1-3
domínio de cachorro 4
B.
4-1BB humano
4-1BB humano domínio 3/4

FIG. 8

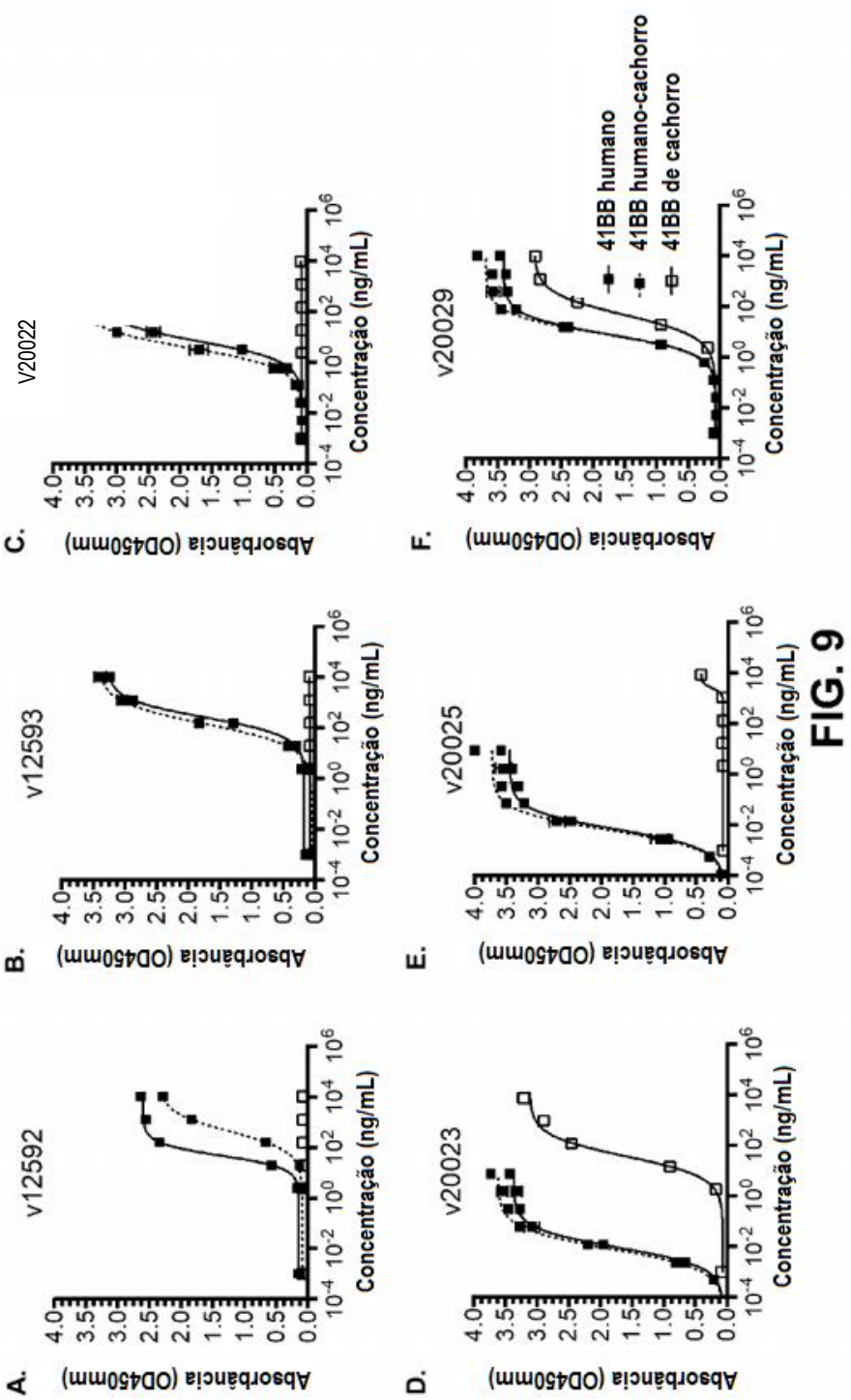

A.
v12592
B.
v12593
C.
V20022
D.
v20023
E.
v20025
F.
v20029
41BB humano
41BB humano-cachorro
41BB de cachorro
Absorbância (OD450nm)
Concentração (ng/mL)

FIG. 9

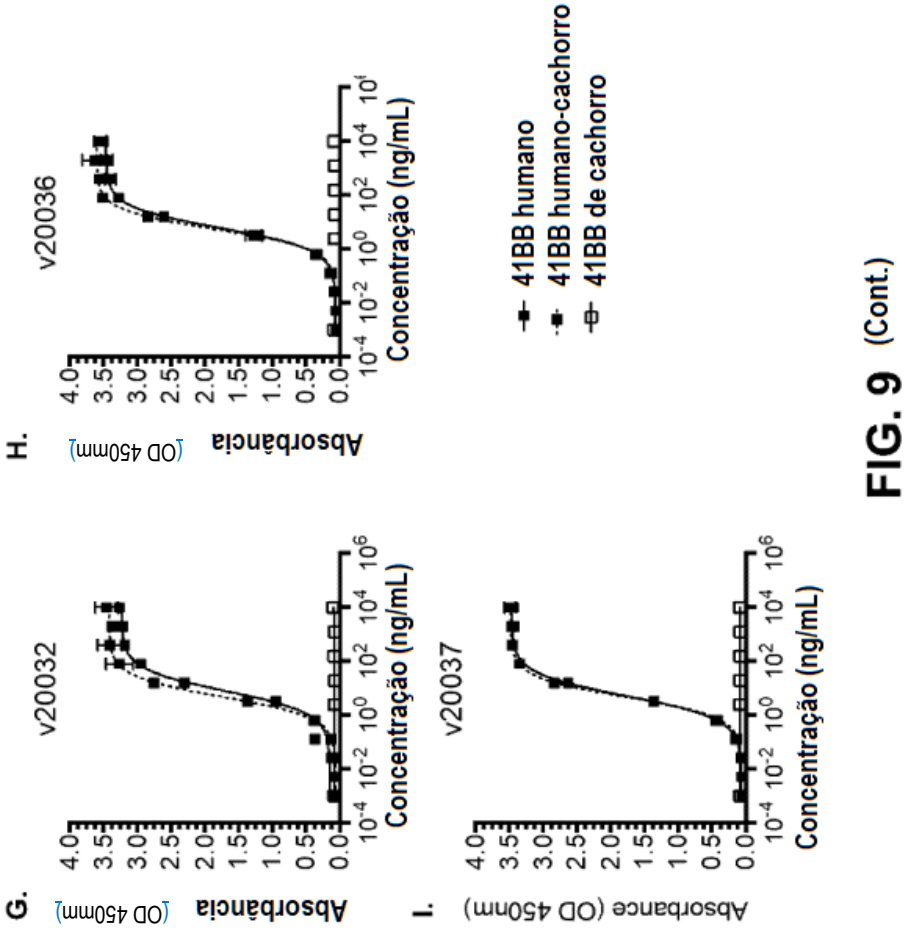

G.
v20032
Absorbância (OD 450nm)
Concentração (ng/mL)
H.
v20036
Absorbância (OD 450nm)
Concentração (ng/mL)
I.
v20037
Absorbance (OD 450nm)
Concentração (ng/mL)
41BB humano
41BB humano-cachorro
41BB de cachorro

FIG. 9 (Cont.)

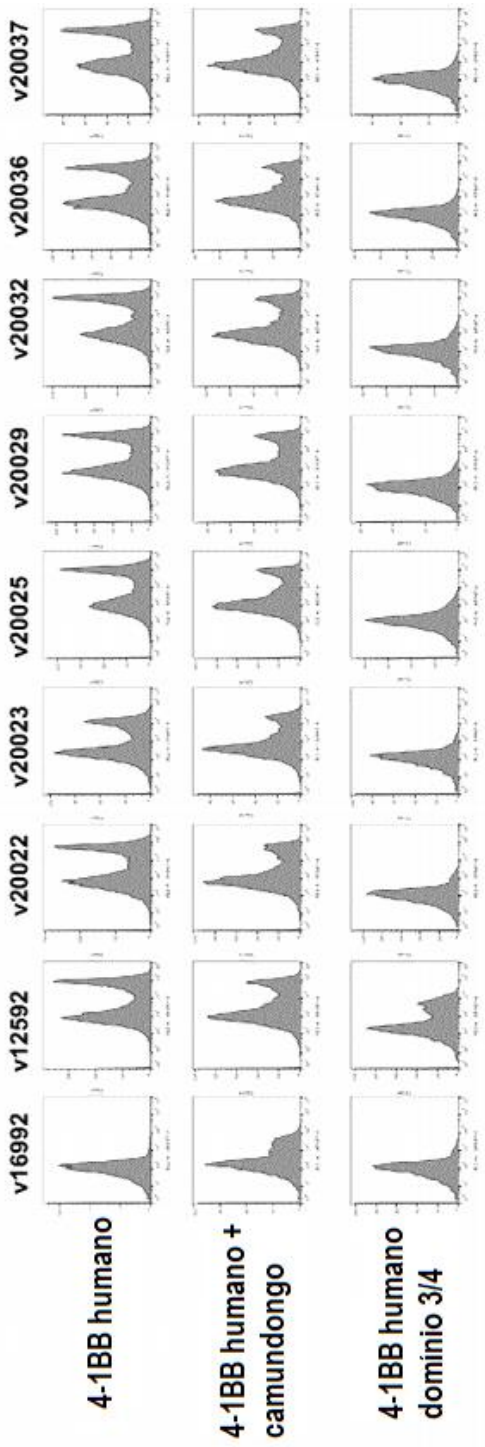

v16992
v12592
v20022
v20023
v20025
v20029
v20032
v20036
v20037
4-1BB humano
4-1BB humano + camundongo
4-1BB humano domínio 3/4

FIG. 10

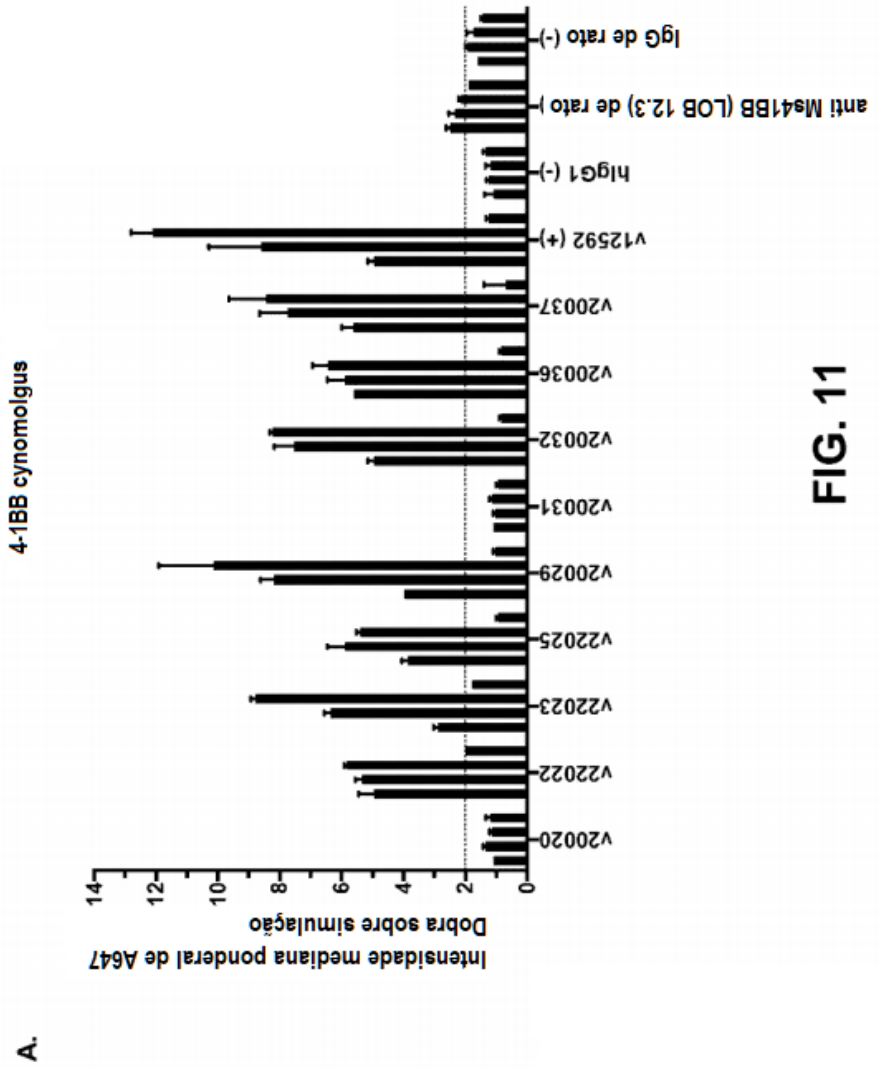

A.
4-1BB cynomolgus
Intensidade mediana ponderal de A647
Dobra sobre simulação
0
2
4
6
8
10
12
14
v20020
v22022
v22023
v22025
v20029
v20031
v20032
v20036
v20037
v12592 (+)
hIgG1 (-)
anti M41BB (LOB 12.3) de rato
IgG de rato (-)

FIG. 11

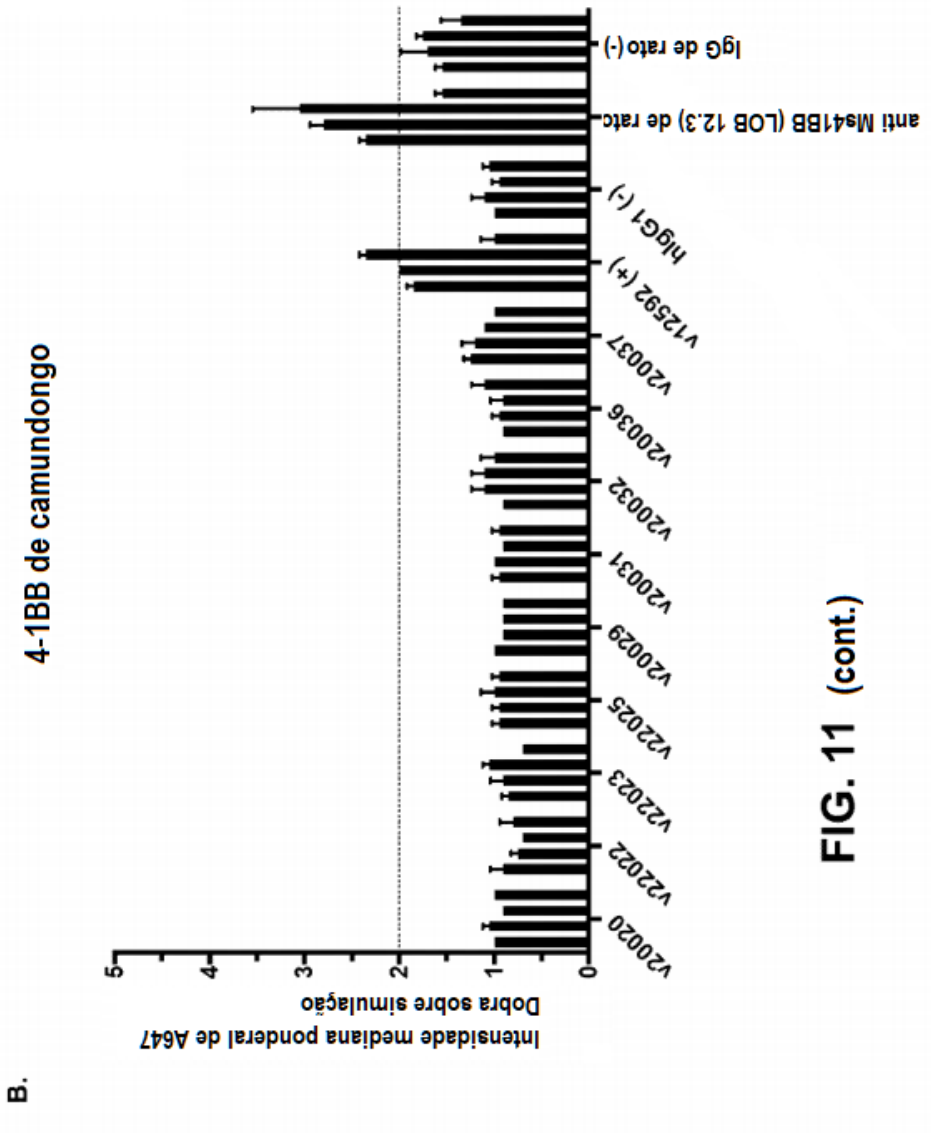

B.
4-1BB de camundongo
Intensidade mediana ponderal de A647
Dobra sobre simulação
0
1
2
3
4
5
v20020
v22022
v22023
v22025
v20029
v20031
v20032
v20036
v20037
v12592 (+)
hIgG1 (-)
anti Ms41BB (LOB 12.3) de ratc
IgG de rato (-)

FIG. 11 (cont.)

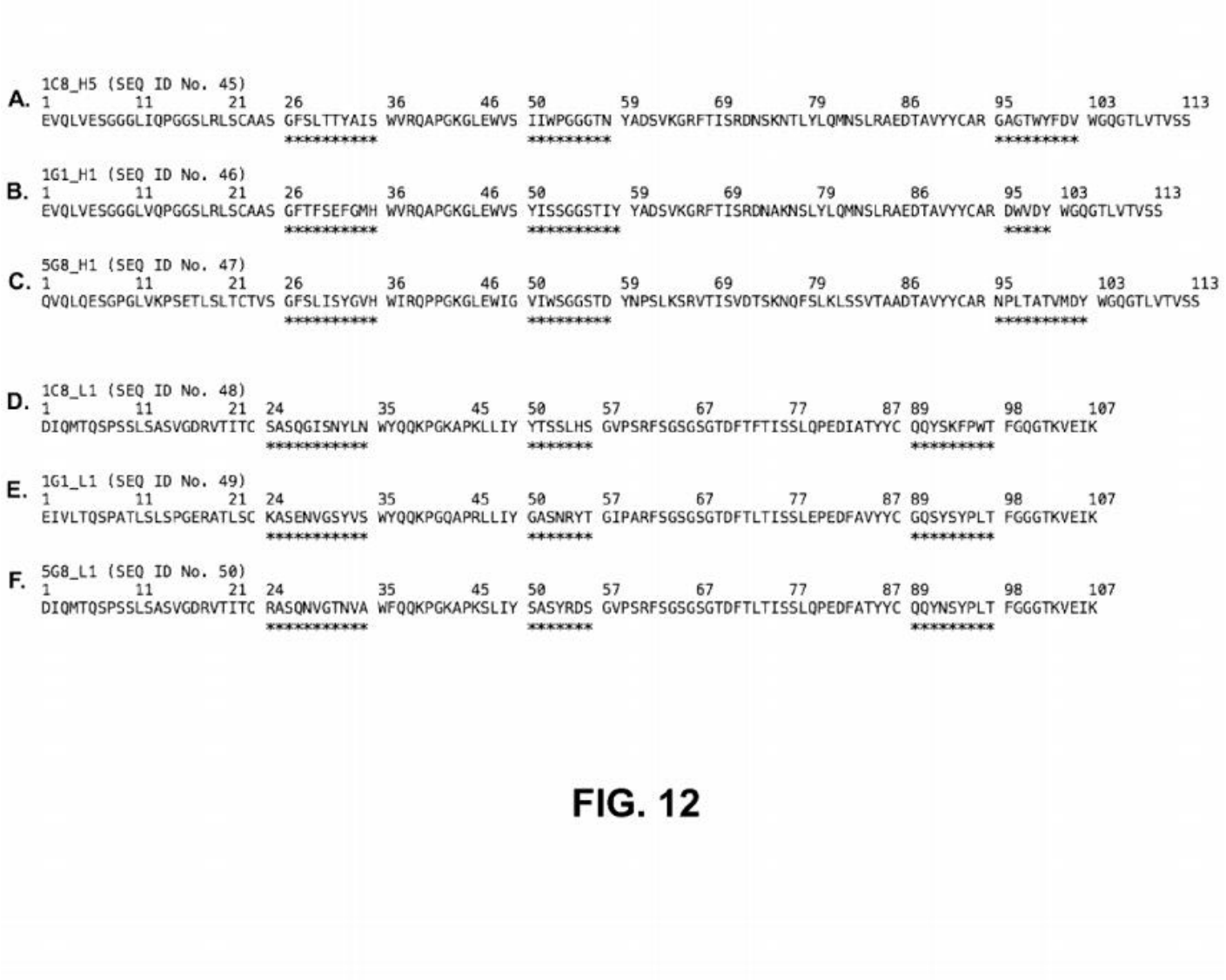

A.
1C8_H5 (SEQ ID No. 45)
1 11 21 26 36 46 50 59 69 79 86 95 103 113
EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAAS GFSLTTYAIS WVRQAPGKGLEWVS IIWPGGGTN YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR GAGTWYFDV WGQGTLVTVSS
B.
1G1_H1 (SEQ ID No. 46)
1 11 21 26 36 46 50 59 69 79 86 95 103 113
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSEFGMH WVRQAPGKGLEWVS YISSGGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DWVDY WGQGTLVTVSS
C.
5G8_H1 (SEQ ID No. 47)
1 11 21 26 36 46 50 59 69 79 86 95 103 113
QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS GFSLISYGVH WIRQPPGKGLEWIG VIWSGGSTD YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR NPLTATVMDY WGQGTLVTVSS
D.
1C8_L1 (SEQ ID No. 48)
1 11 21 24 35 45 50 57 67 77 87 89 98 107
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC SASQGISNYLN WYQQKPGKAPKLLIY YTSSLHS GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC QQYSKFPWT FGQGTKVEIK
E.
1G1_L1 (SEQ ID No. 49)
1 11 21 24 35 45 50 57 67 77 87 89 98 107
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC KASENVGSYVS WYQQKPGQAPRLLIY GASNRYT GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC GQSYSYPLT FGGGTKVEIK
F.
5G8_L1 (SEQ ID No. 50)
1 11 21 24 35 45 50 57 67 77 87 89 98 107
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQNVGTNVA WFQQKPGKAPKSLIY SASYRDS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQYNSYPLT FGGGTKVEIK

FIG. 12

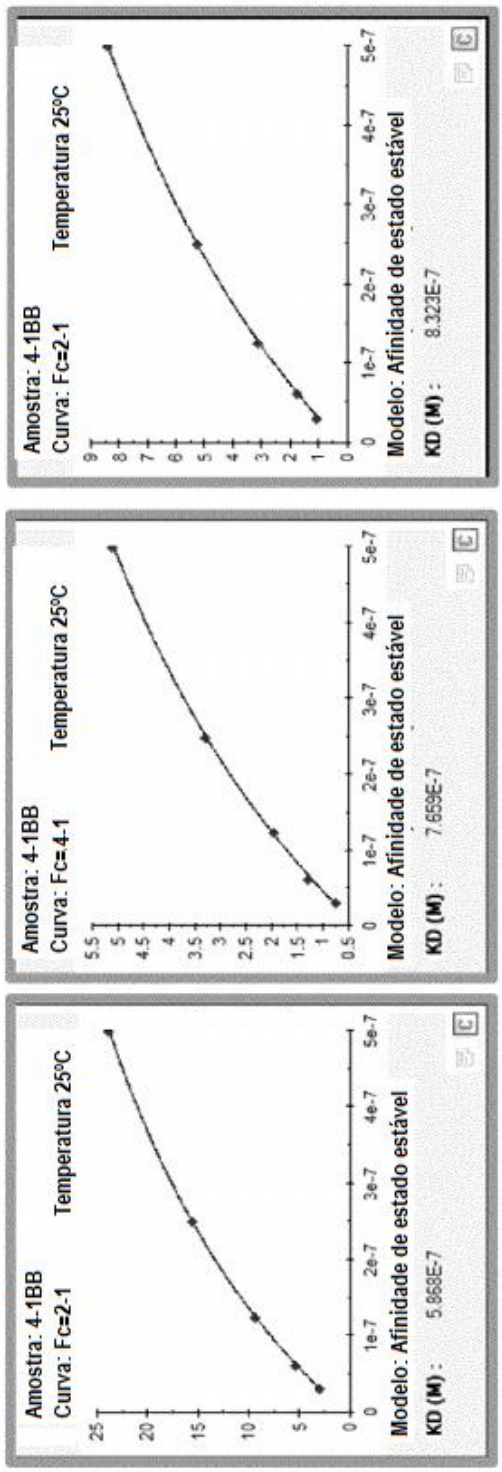

v20022
v28726
v28727
Amostra: 4-1BB
Curva: Fc=2-1
Temperatura 25ºC
Modelo: Afinidade de estado estável
KD (M) : 5.868E-7
Amostra: 4-1BB
Curva: Fc=4-1
Temperatura 25ºC
Modelo: Afinidade de estado estável
KD (M) : 7.659E-7
Amostra: 4-1BB
Curva: Fc=2-1
Temperatura 25ºC
Modelo: Afinidade de estado estável
KD (M) : 8.323E-7

FIG. 13

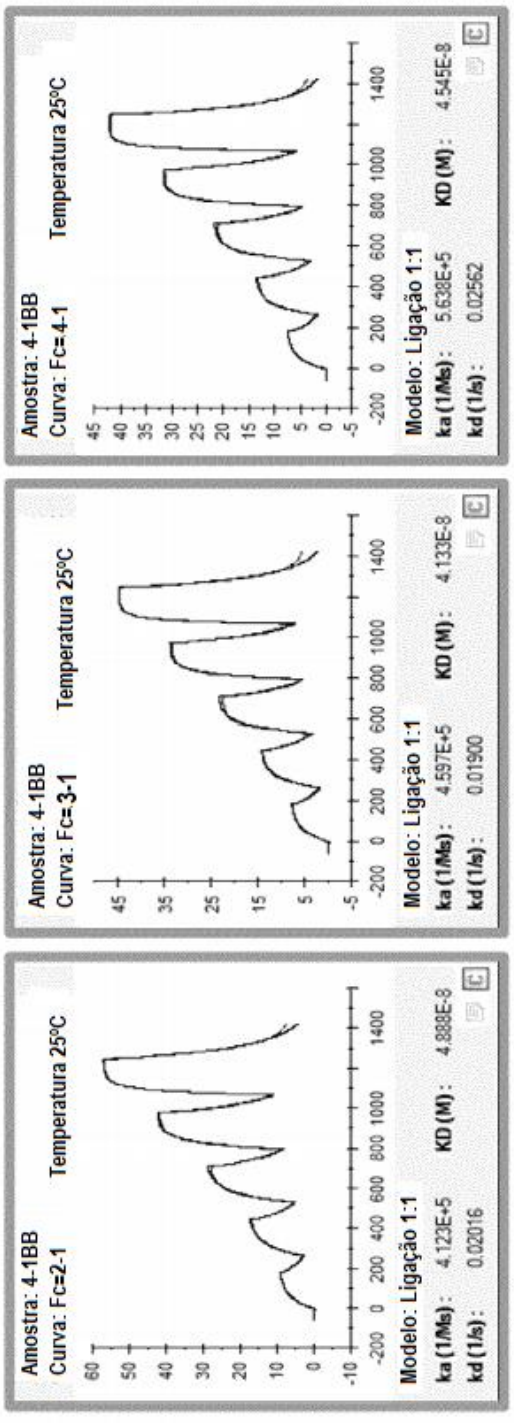

v20023
v28683
v28692
Amostra: 4-1BB
Curva: Fc=2-1
Temperatura 25°C
Modelo: Ligação 1:1
ka (1/Ms): 4.123E+5
KD (M): 4.888E-8
kd (1/s): 0.02016
Amostra: 4-1BB
Curva: Fc=3-1
Temperatura 25°C
Modelo: Ligação 1:1
ka (1/Ms): 4.597E+5
KD (M): 4.133E-8
kd (1/s): 0.01900
Amostra: 4-1BB
Curva: Fc=4-1
Temperatura 25°C
Modelo: Ligação 1:1
ka (1/Ms): 5.638E+5
KD (M): 4.545E-8
kd (1/s): 0.02562

FIG. 14

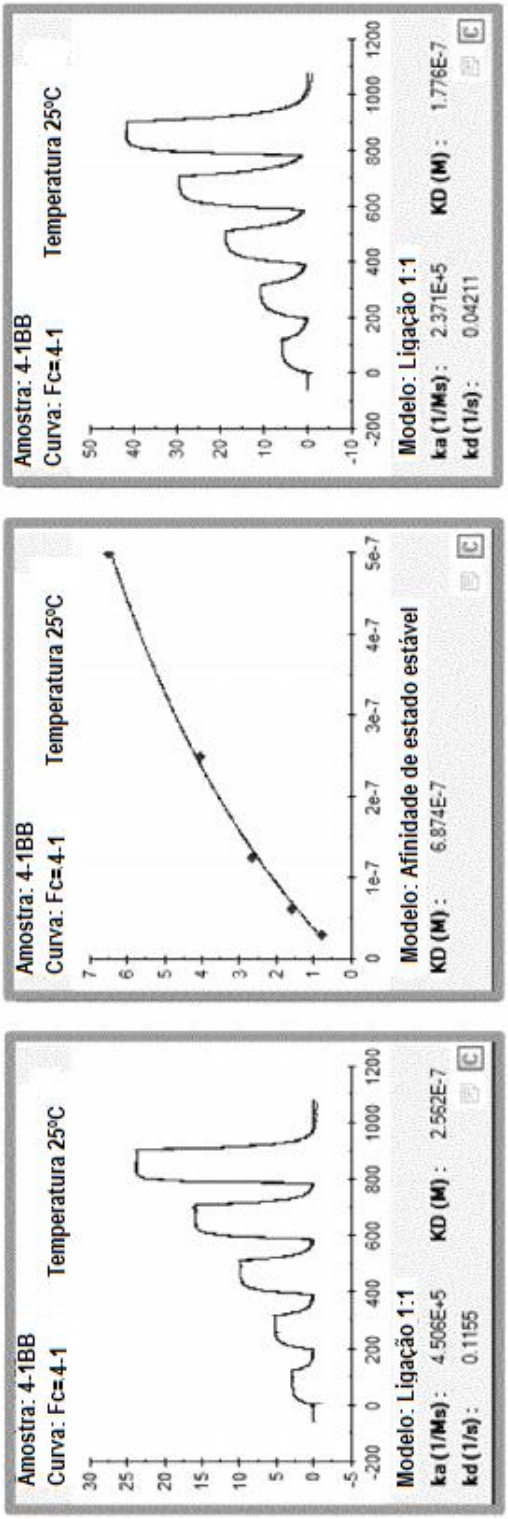

v20036
Amostra: 4-1BB
Curva: Fc=4-1
Temperatura 25°C
Modelo: Ligação 1:1
ka (1/Ms) : 4.506E+5
KD (M) : 2.562E-7
kd (1/s) : 0.1155
v28696
Amostra: 4-1BB
Curva: Fc=4-1
Temperatura 25°C
Modelo: Afinidade de estado estável
KD (M) : 6.874E-7
v28704
Amostra: 4-1BB
Curva: Fc=4-1
Temperatura 25°C
Modelo: Ligação 1:1
ka (1/Ms) : 2.371E+5
KD (M) : 1.776E-7
kd (1/s) : 0.04211

FIG. 15

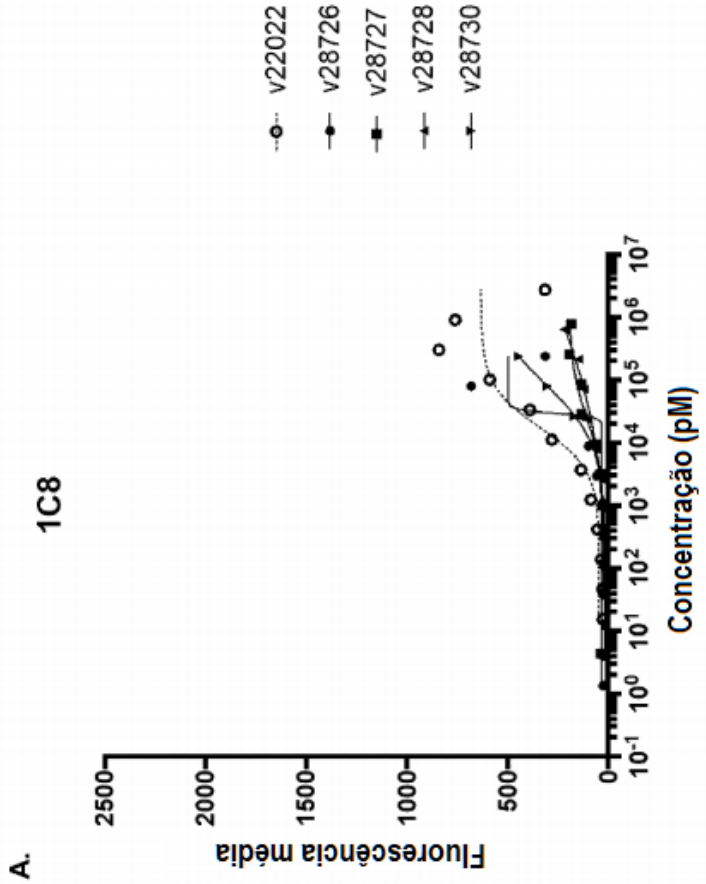

A.
1C8
Fluorescência média
2500
2000
1500
1000
500
0
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5} 10^{6} 10^{7}
Concentração (pM)
v22022
v28726
v28727
v28728
v28730

FIG. 16

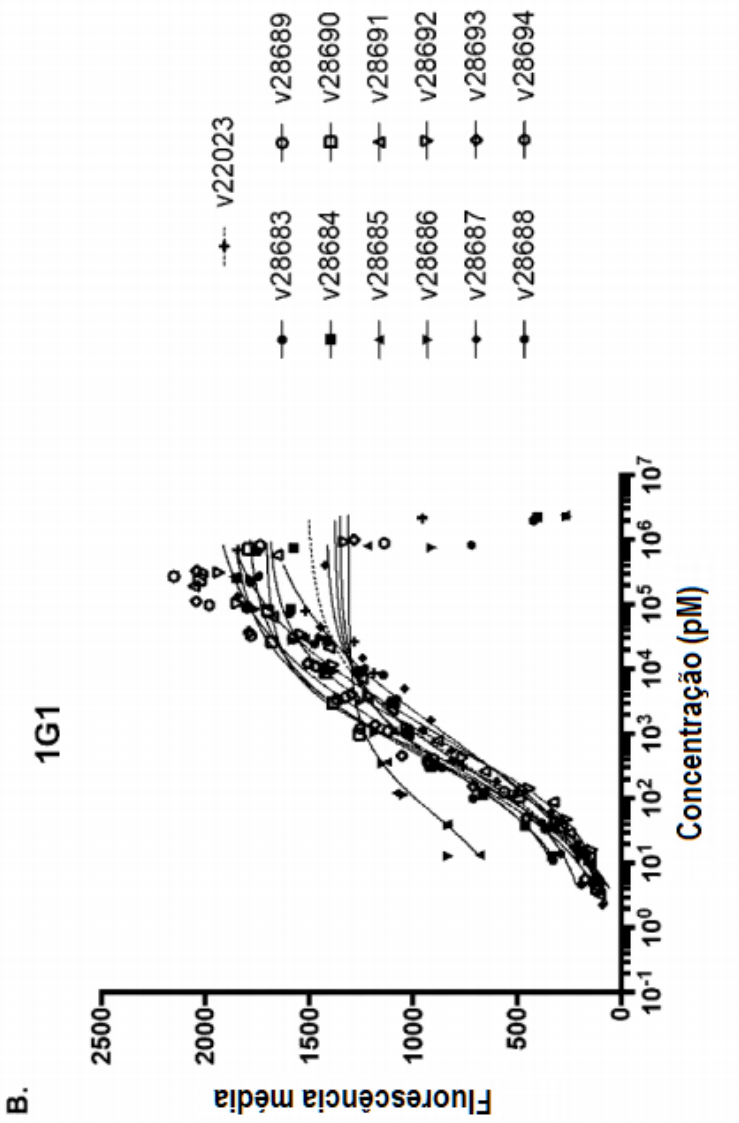

B.
1G1
Fluorescência média
2500
2000
1500
1000
500
0
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5} 10^{6} 10^{7}
Concentração (pM)
v22023
v28683
v28684
v28685
v28686
v28687
v28688
v28689
v28690
v28691
v28692
v28693
v28694

FIG. 16 (cont.)

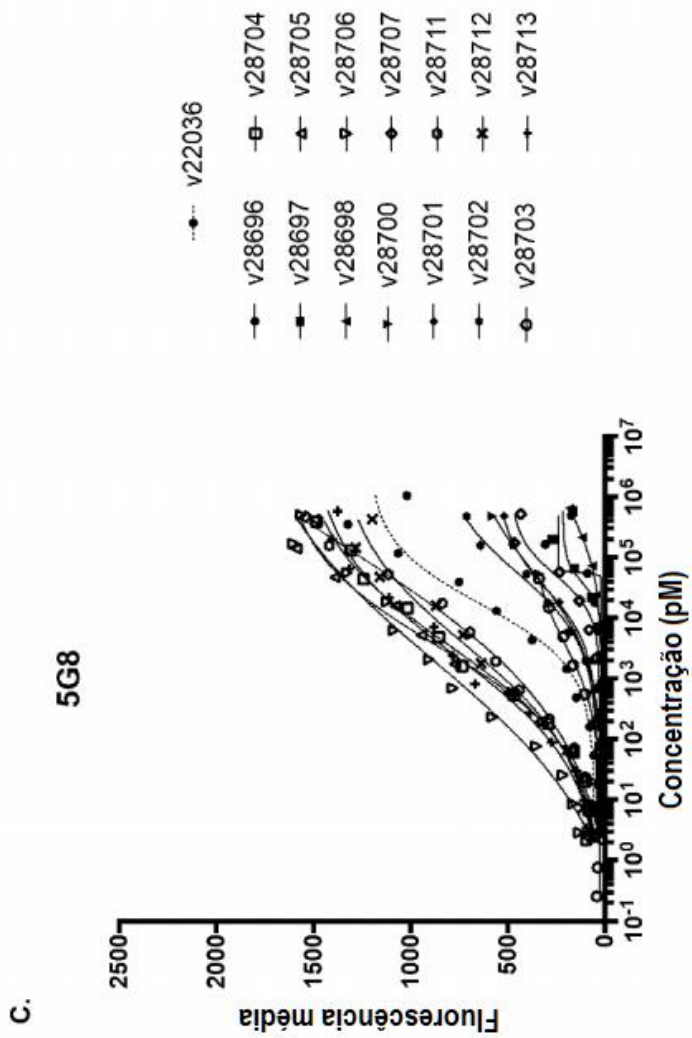

C.
5G8
Fluorescência média
2500
2000
1500
1000
500
0
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5} 10^{6} 10^{7}
Concentração (pM)
v22036
v28696
v28697
v28698
v28700
v28701
v28702
v28703
v28704
v28705
v28706
v28707
v28711
v28712
v28713

FIG. 16 (cont.)

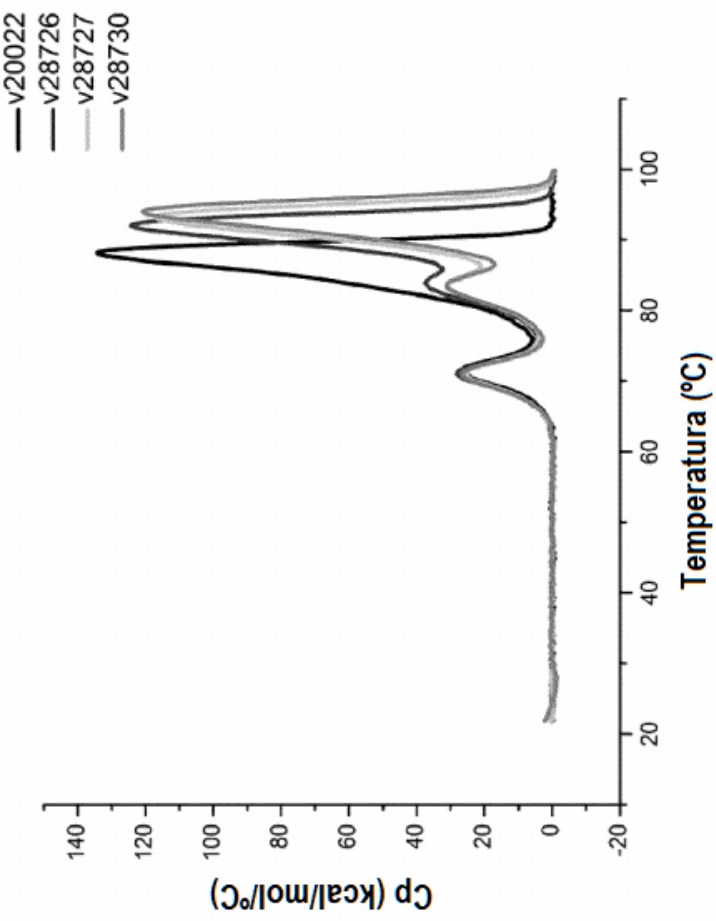

v20022
v28726
v28727
v28730
Cp (kcal/mol/°C)
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
20
40
60
80
100
Temperatura (°C)

FIG. 17

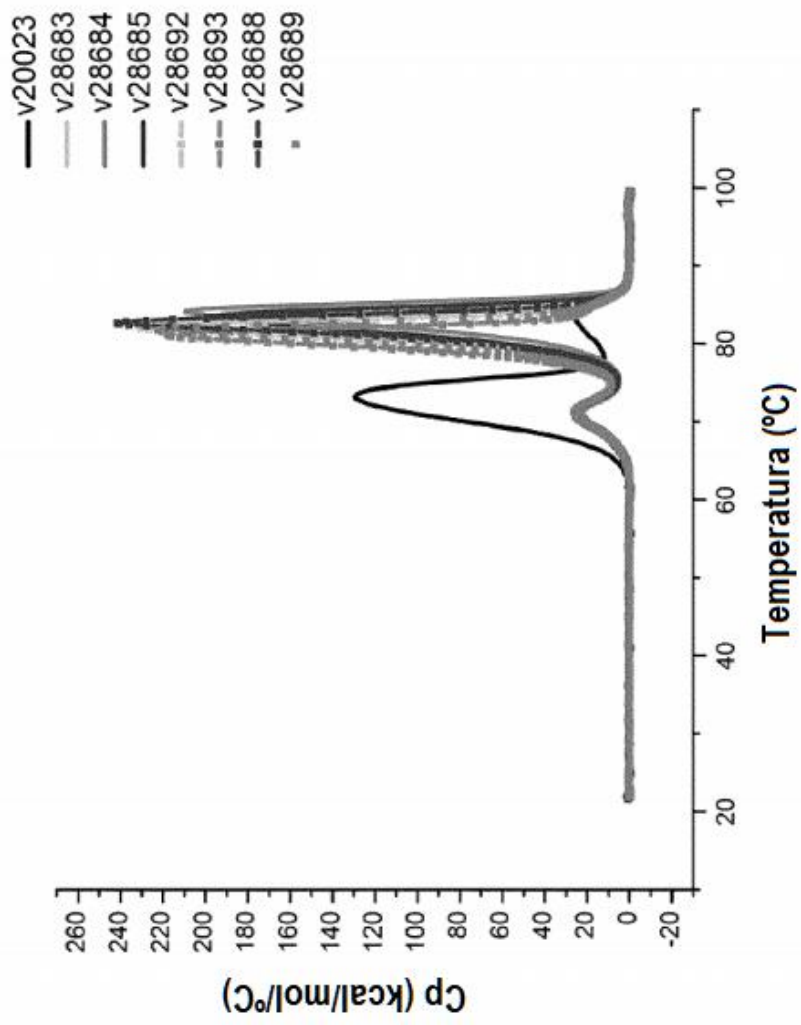

v20023
v28683
v28684
v28685
v28692
v28693
v28688
v28689
Cp (kcal/mol/°C)
260
240
220
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
20
40
60
80
100
Temperatura (°C)

FIG. 18

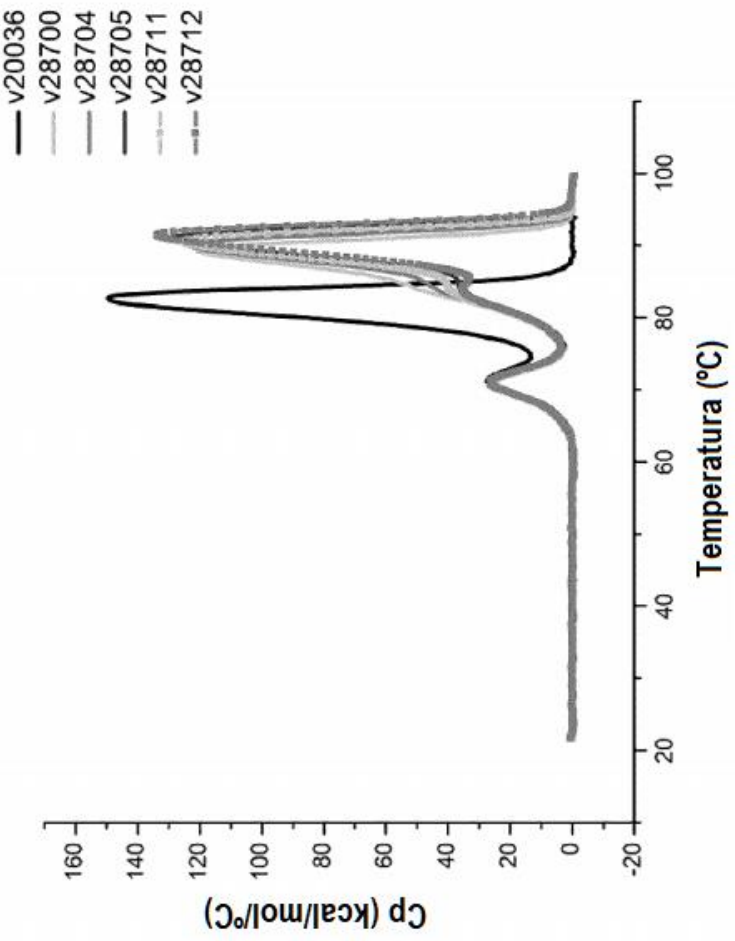

v20036
v28700
v28704
v28705
v28711
v28712
Cp (kcal/mol/°C)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
20
40
60
80
100
Temperatura (°C)

FIG. 19

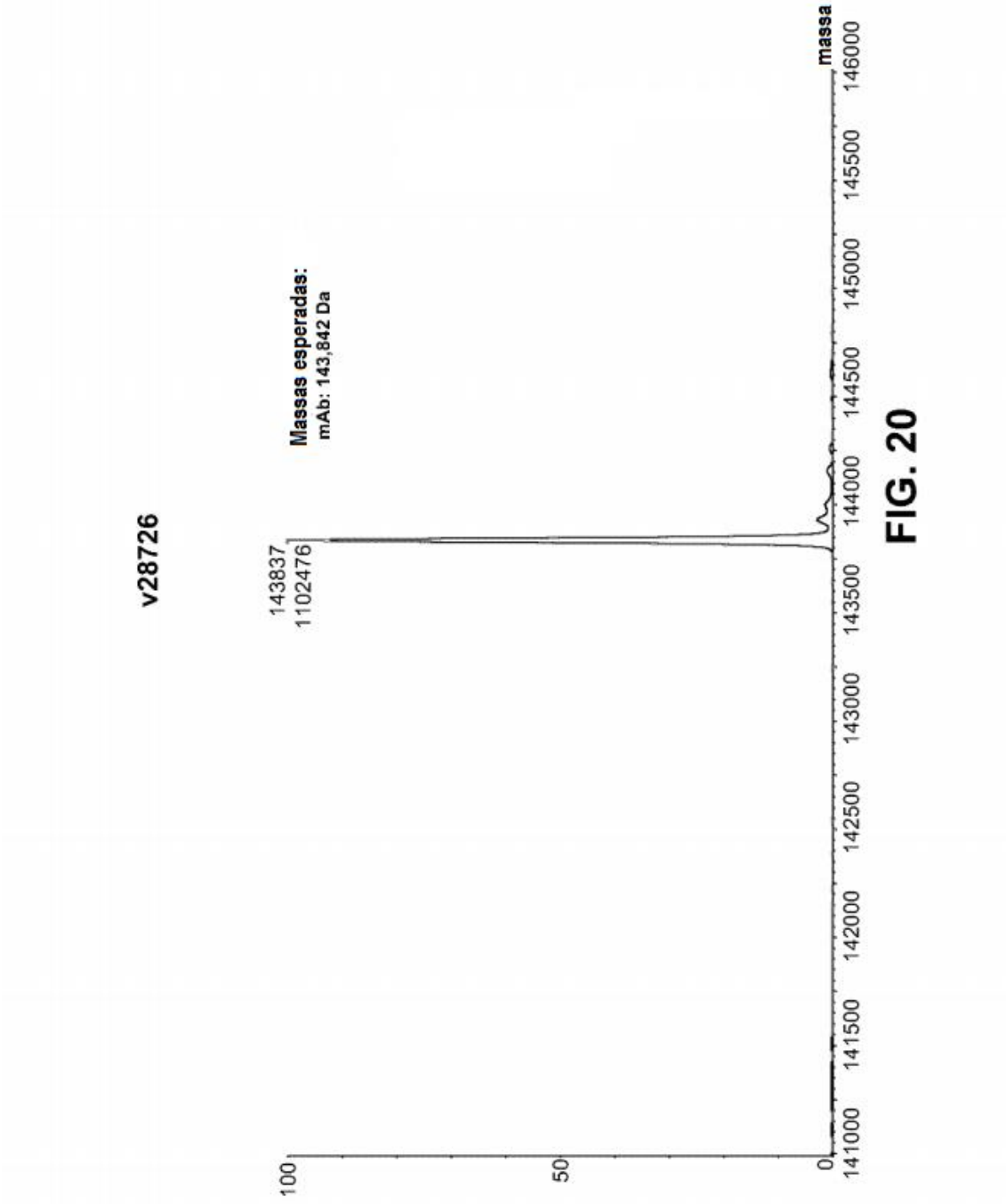

v28726
Massas esperadas:
mAb: 143,842 Da
143837
1102476
100
50
0
141000
141500
142000
142500
143000
143500
144000
144500
145000
145500
146000
massa

FIG. 20

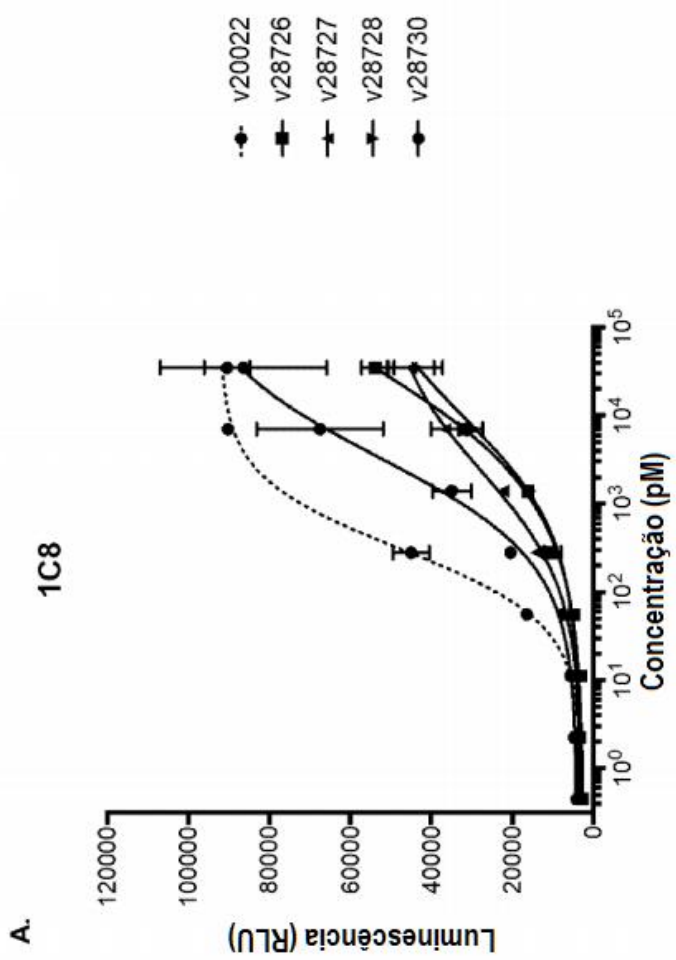

A.
1C8
Luminescência (RLU)
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
Concentração (pM)
v20022
v28726
v28727
v28728
v28730

FIG. 21

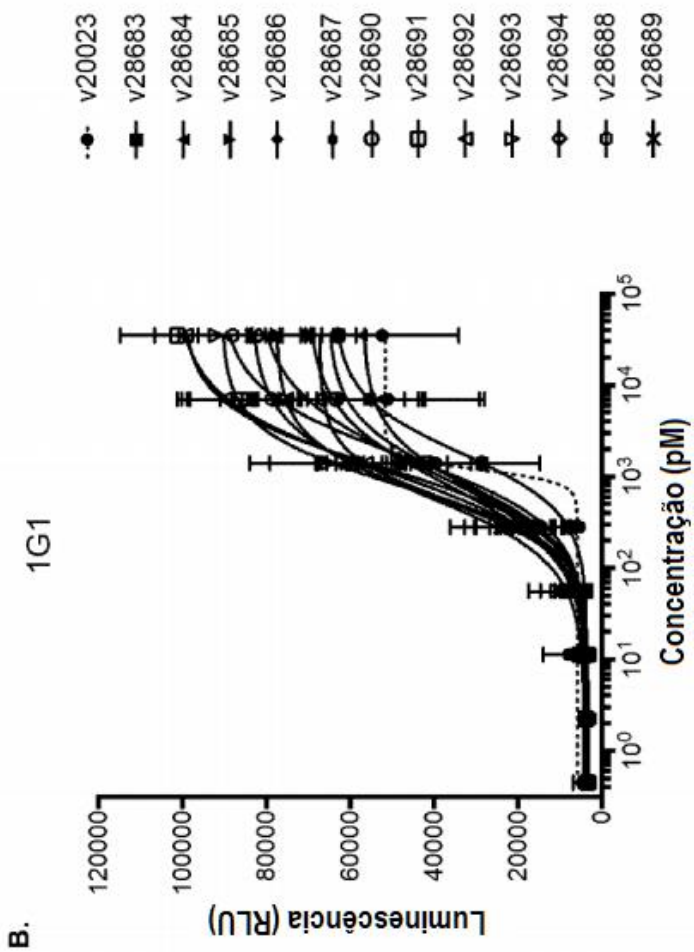

B.
1G1
Luminescência (RLU)
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
Concentração (pM)
v20023
v28683
v28684
v28685
v28686
v28687
v28690
v28691
v28692
v28693
v28694
v28688
v28689

FIG. 21 (cont.)

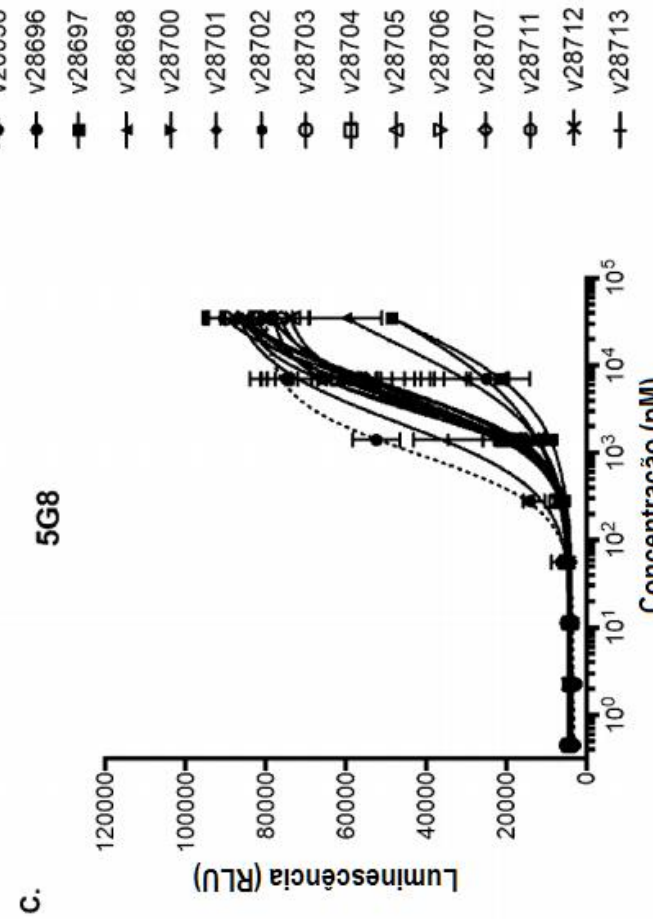

C.
5G8
Luminescência (RLU)
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
Concentração (pM)
v20036
v28696
v28697
v28698
v28700
v28701
v28702
v28703
v28704
v28705
v28706
v28707
v28711
v28712
v28713

FIG. 21 (cont.)

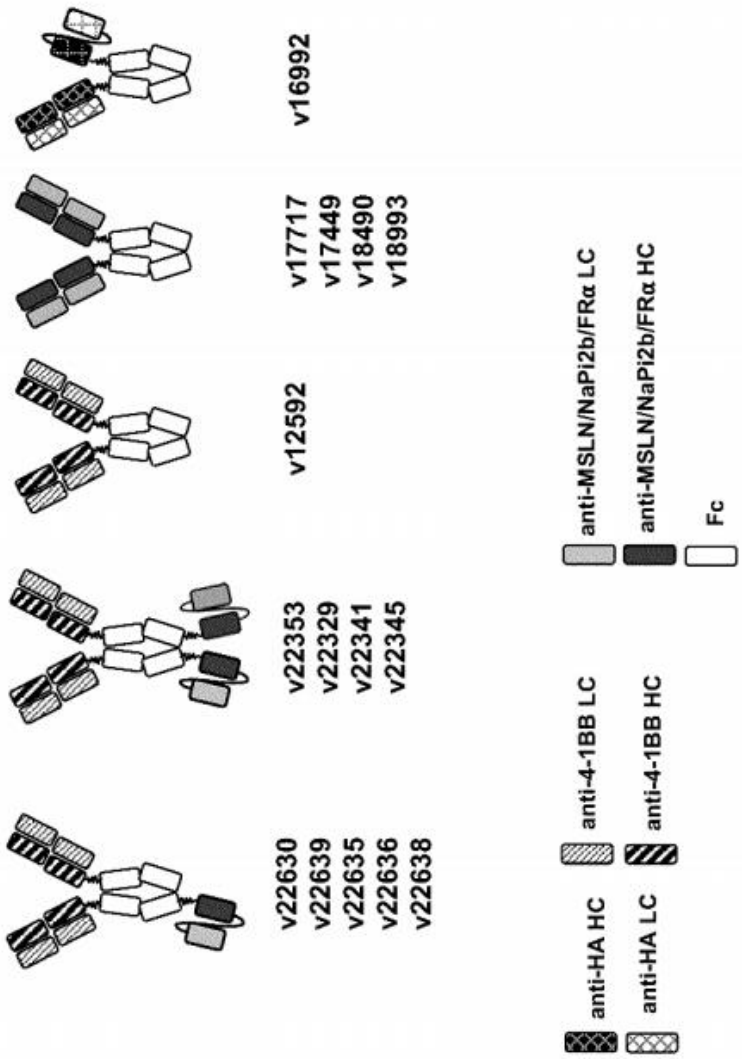

v22630
v22639
v22635
v22636
v22638
v22353
v22329
v22341
v22345
v12592
v17717
v17449
v18490
v18993
v16992
anti-HA HC
anti-HA LC
anti-4-1BB LC
anti-4-1BB HC
anti-MSLN/NaPi2b/FRα LC
anti-MSLN/NaPi2b/FRα HC
Fc

FIG. 22

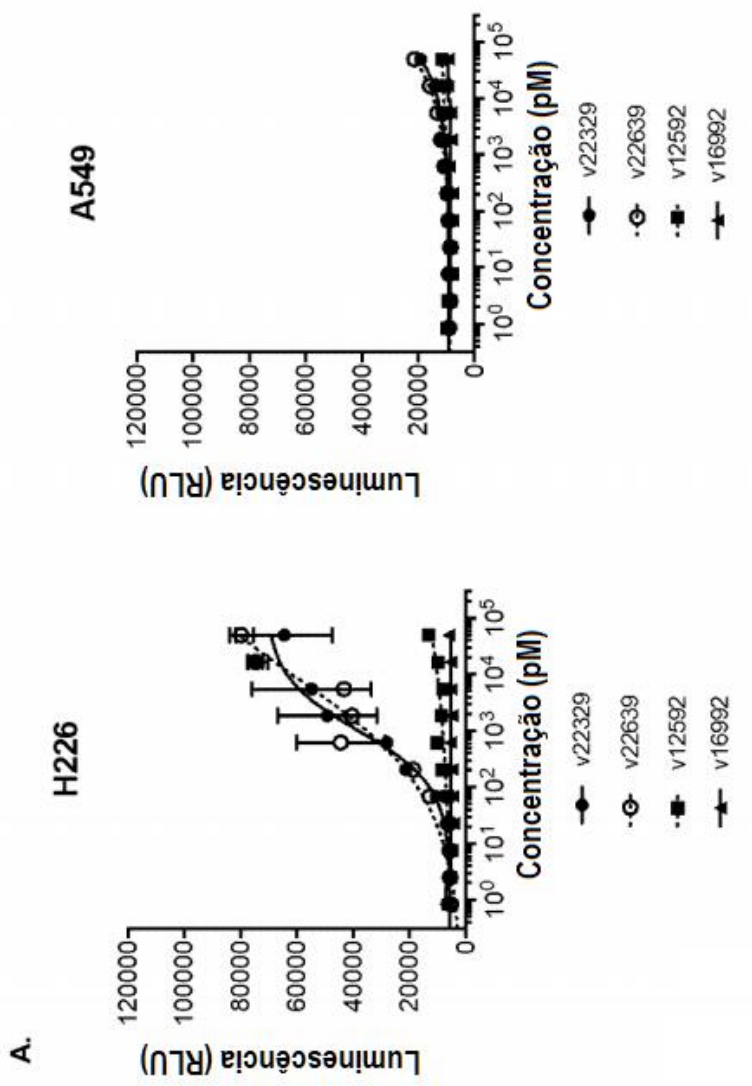

A.
H226
A549
Luminescência (RLU)
Concentração (pM)
v22329
v22639
v12592
v16992

FIG. 23

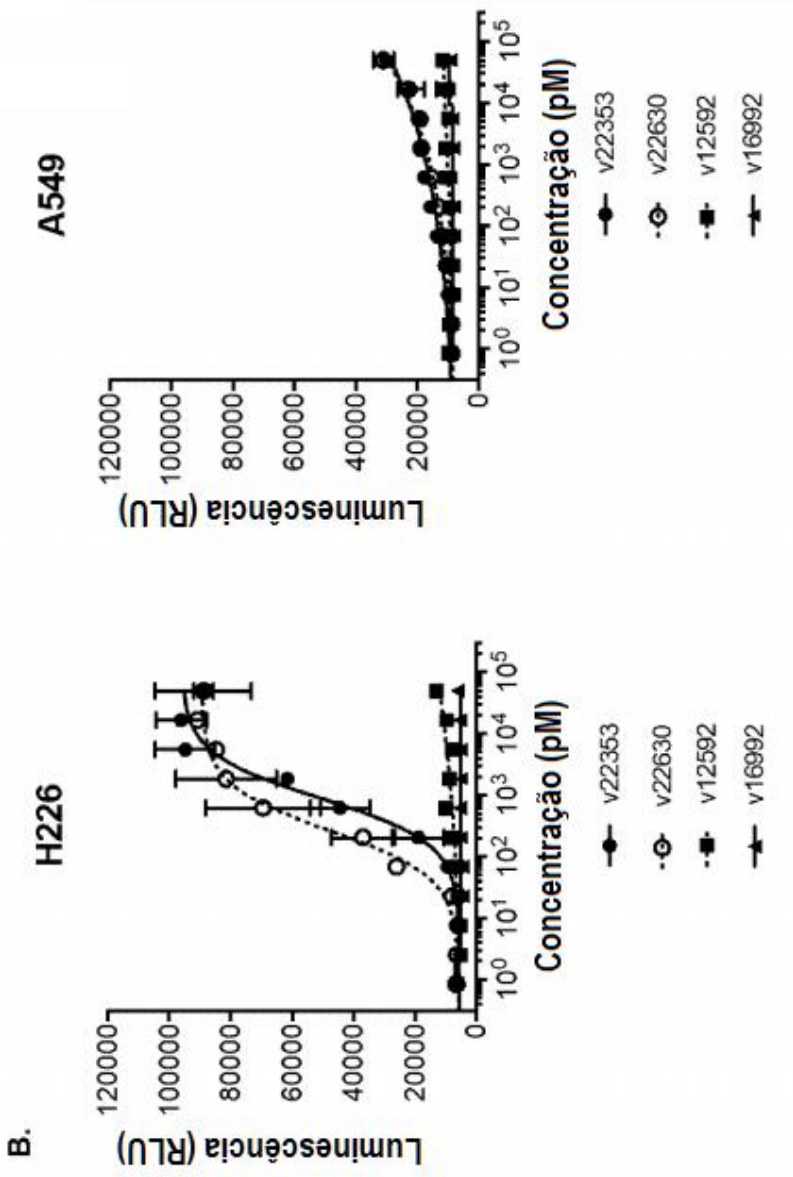

B.
H226
A549
Luminescência (RLU)
Concentração (pM)
v22353
v22630
v12592
v16992

FIG. 23 (cont.)

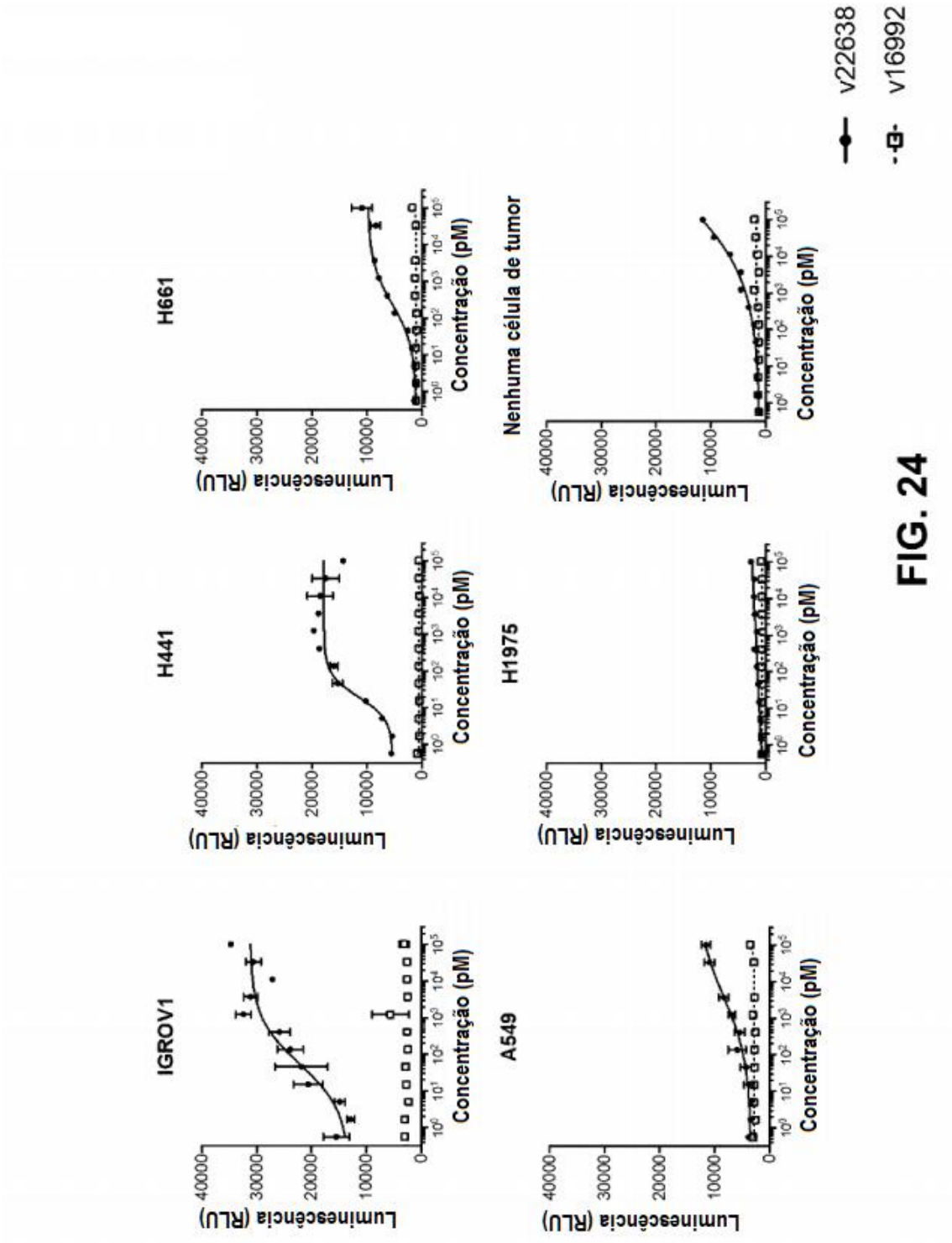

IGROV1
H441
H661
A549
H1975
Nenhuma célula de tumor
Luminescência (RLU)
Concentração (pM)
v22638
v16992

FIG. 24

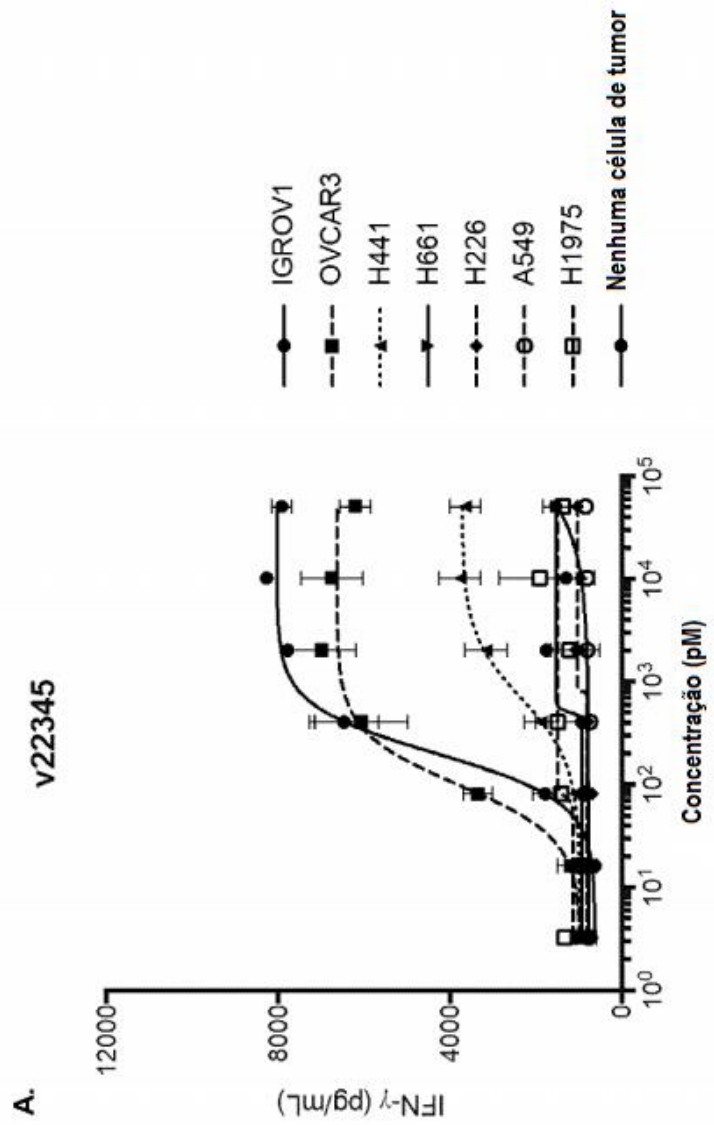

A.
v22345
IFN-γ (pg/mL)
12000
8000
4000
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
Concentração (pM)
IGROV1
OVCAR3
H441
H661
H226
A549
H1975
Nenhuma célula de tumor

FIG. 25

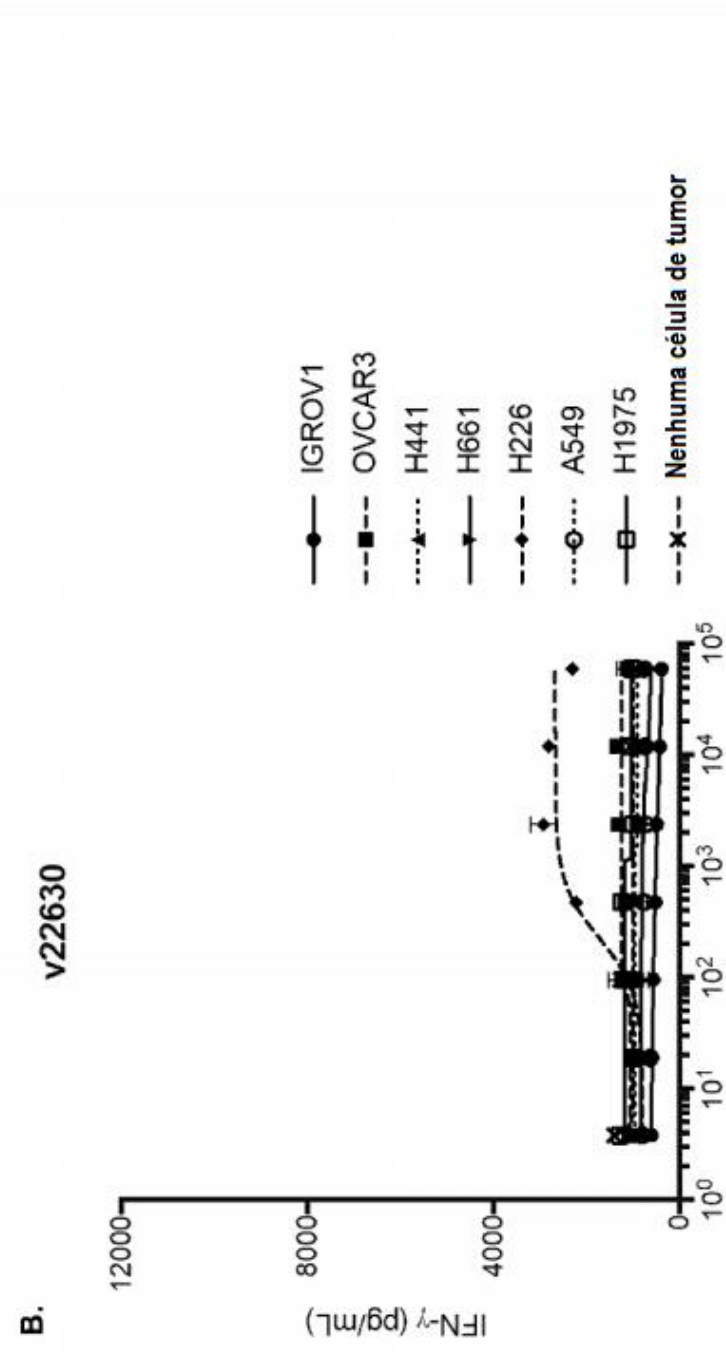

B.
v22630
IFN-γ (pg/mL)
12000
8000
4000
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
Concentração (pM)
IGROV1
OVCAR3
H441
H661
H226
A549
H1975
Nenhuma célula de tumor

FIG. 25 (cont.)

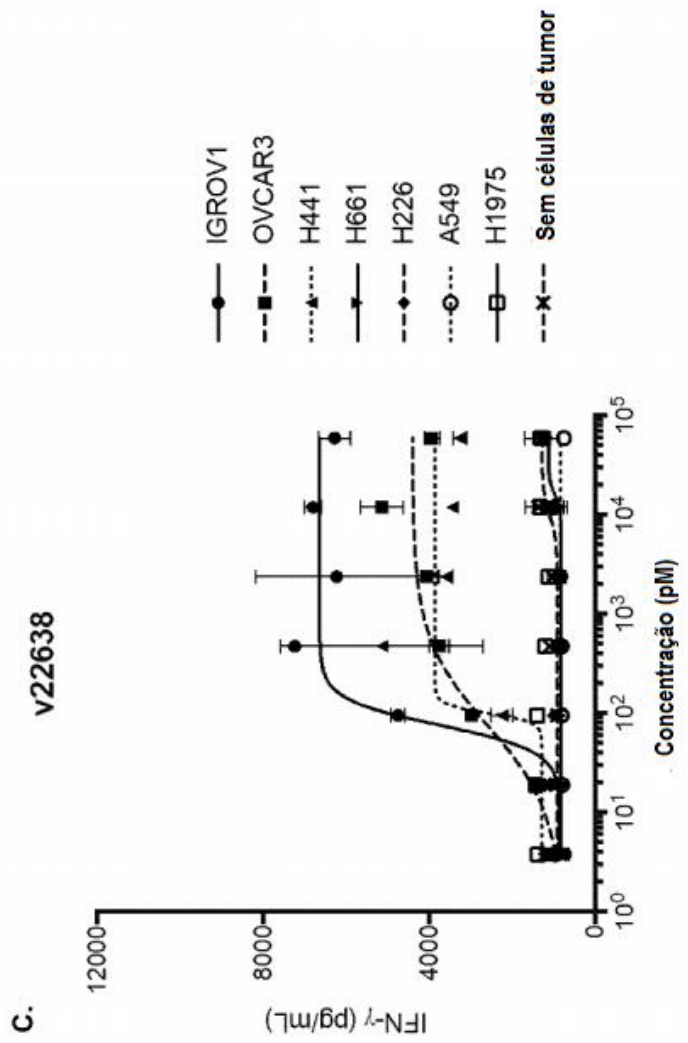

c.
v22638
IFN-γ (pg/mL)
12000
8000
4000
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
Concentração (pM)
IGROV1
OVCAR3
H441
H661
H226
A549
H1975
Sem células de tumor

FIG. 25 (Cont.)

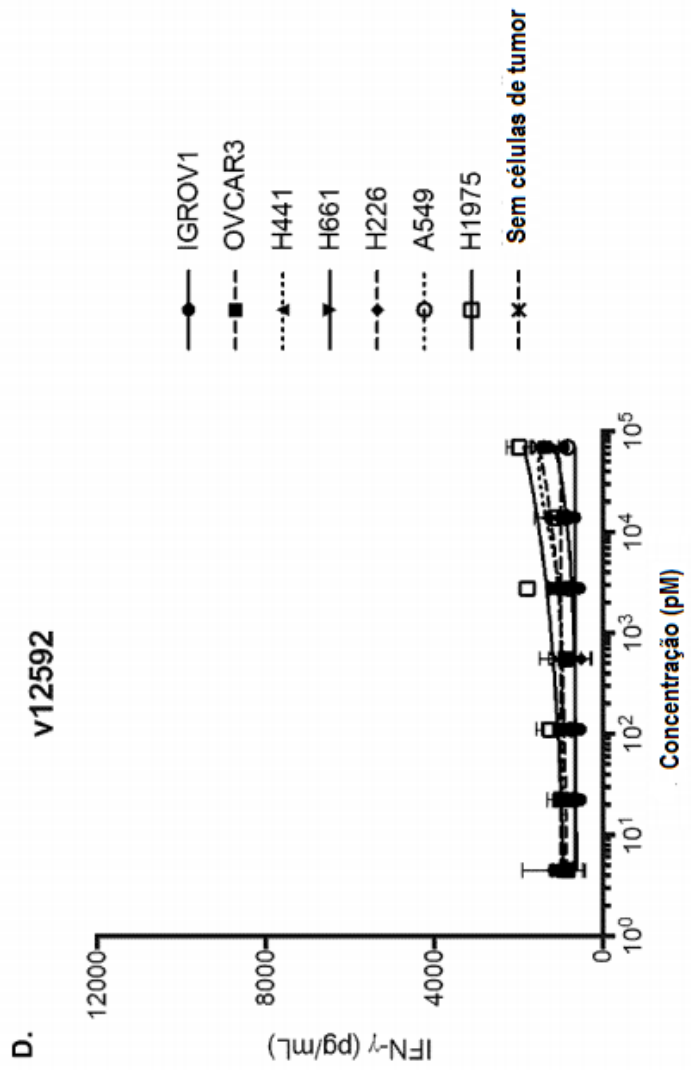

D.
v12592
IFN-γ (pg/mL)
12000
8000
4000
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
Concentração (pM)
IGROV1
OVCAR3
H441
H661
H226
A549
H1975
Sem células de tumor

FIG. 25 (Cont.)

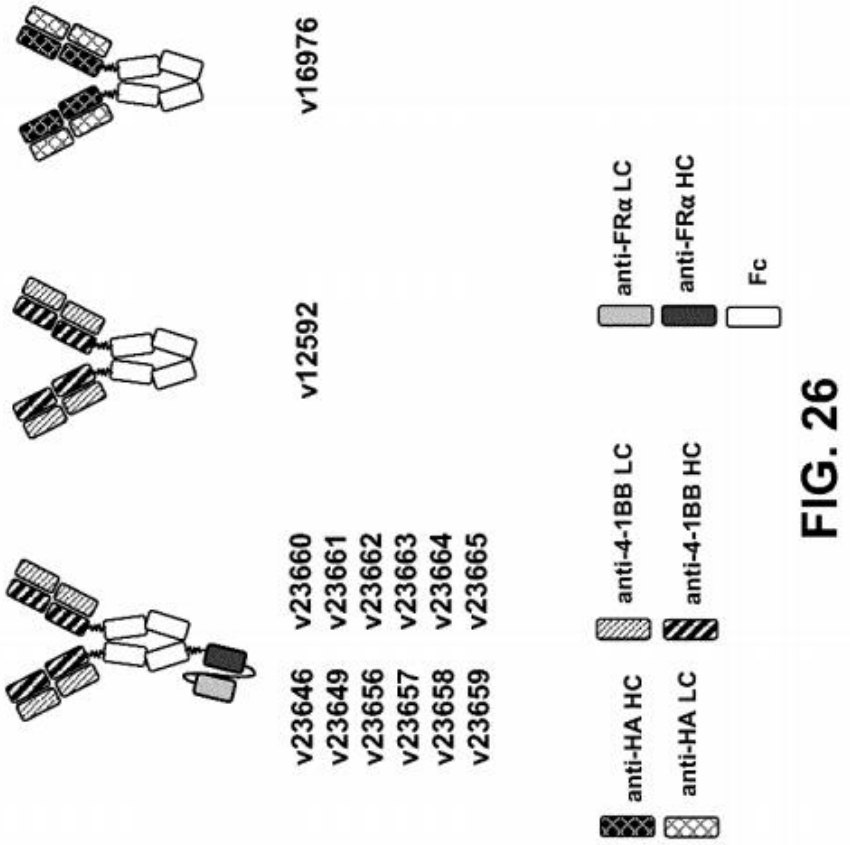

v16976
v12592
v23660
v23661
v23662
v23663
v23664
v23665
v23646
v23649
v23656
v23657
v23658
v23659
anti-FRα LC
anti-FRα HC
Fc
anti-4-1BB LC
anti-4-1BB HC
anti-HA HC
anti-HA LC

FIG. 26

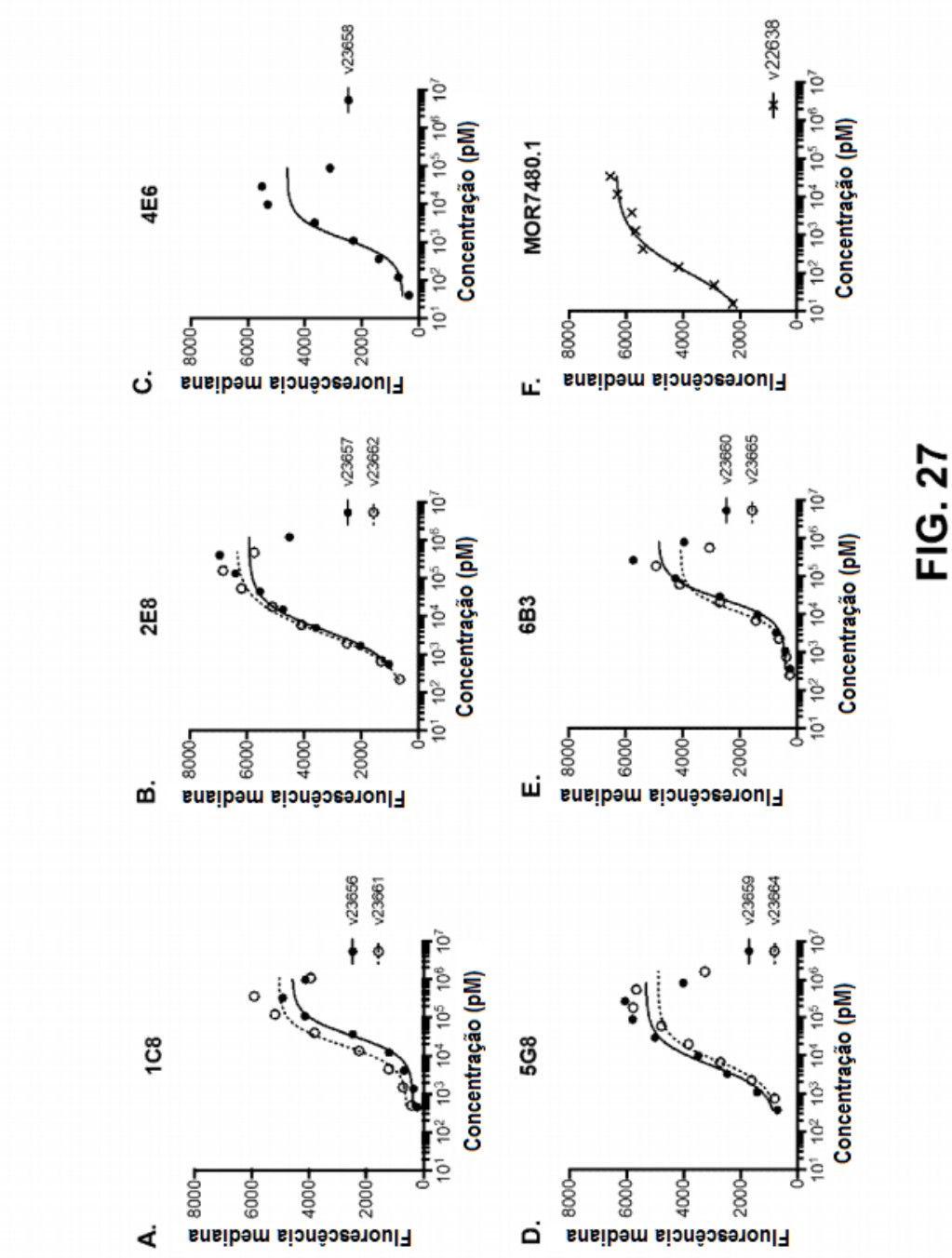

A.
1C8
B.
2E8
C.
4E6
D.
5G8
E.
6B3
F.
MOR7480.1
Fluorescência mediana
Concentração (pM)
v23656
v23661
v23657
v23662
v23658
v23659
v23664
v23660
v23665
v22638

FIG. 27

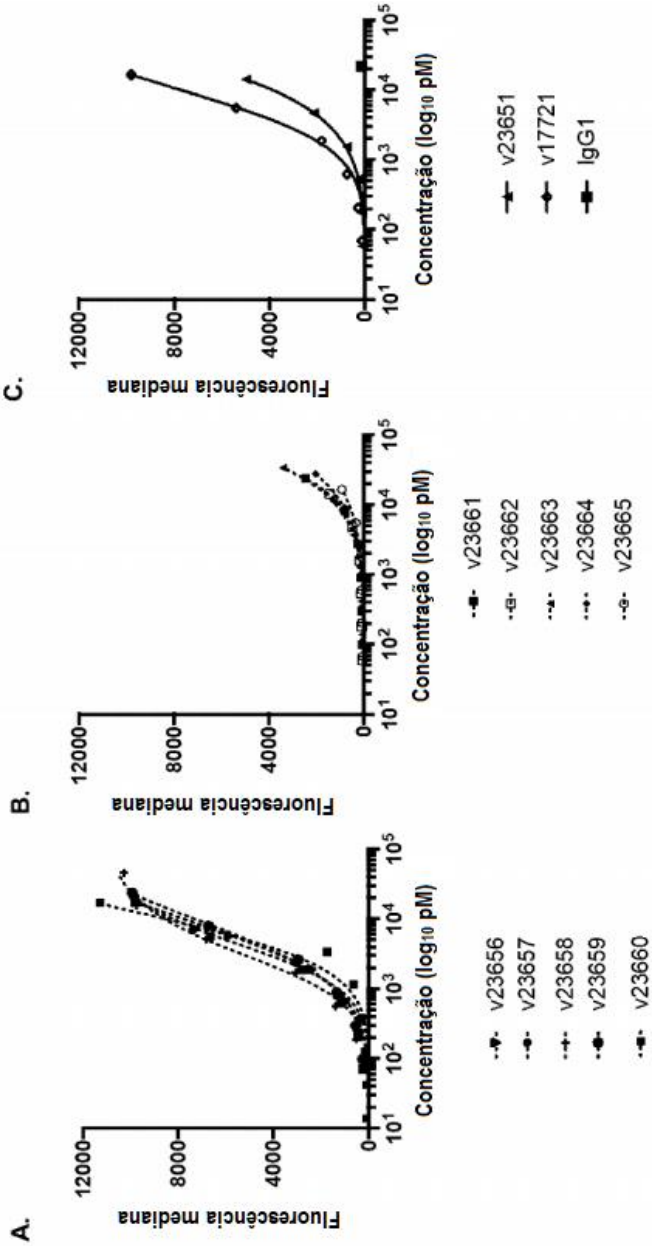

A.
B.
C.
Fluorescência mediana
Concentração (log10 pM)
v23656
v23657
v23658
v23659
v23660
v23661
v23662
v23663
v23664
v23665
v23651
v17721
IgG1

FIG. 28

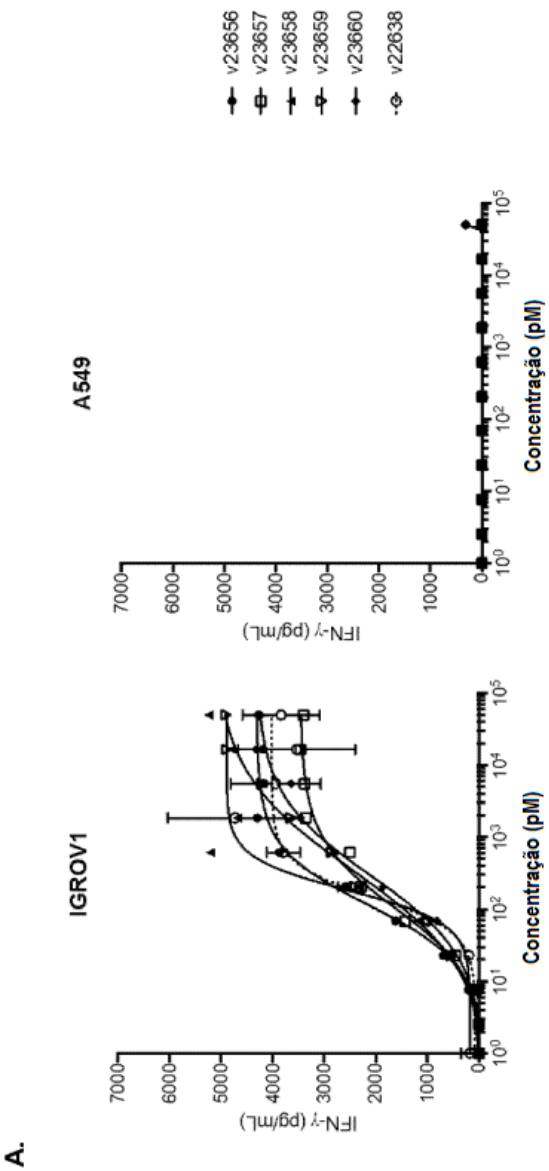

A.
IGROV1
A549
IFN-γ (pg/mL)
Concentração (pM)
v23656
v23657
v23658
v23659
v23660
v22638

FIG. 29

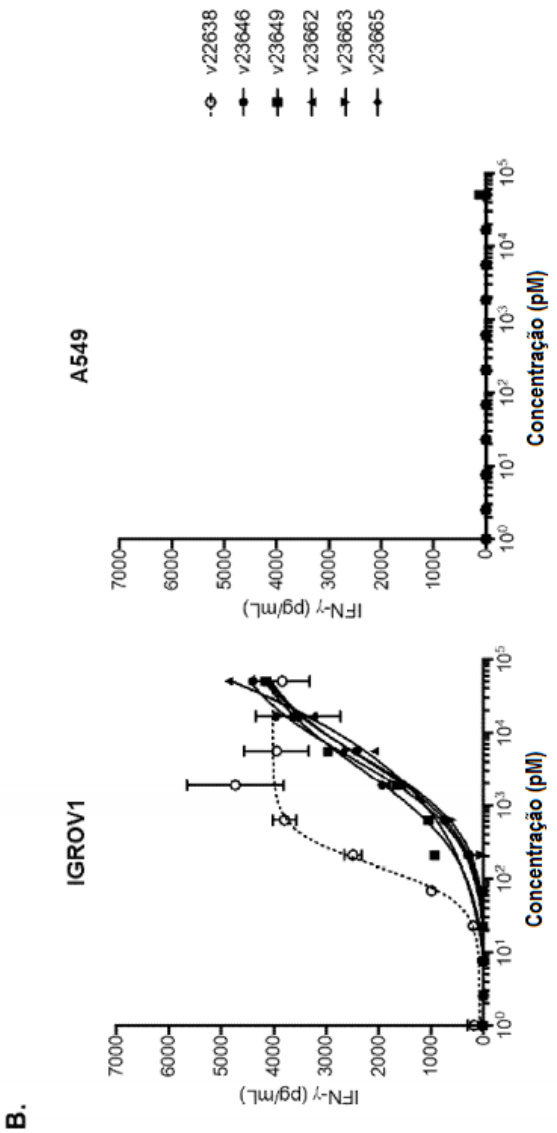

B.
IGROV1
A549
IFN-γ (pg/mL)
Concentração (pM)
v22638
v23646
v23649
v23662
v23663
v23665

FIG. 29 (cont.)

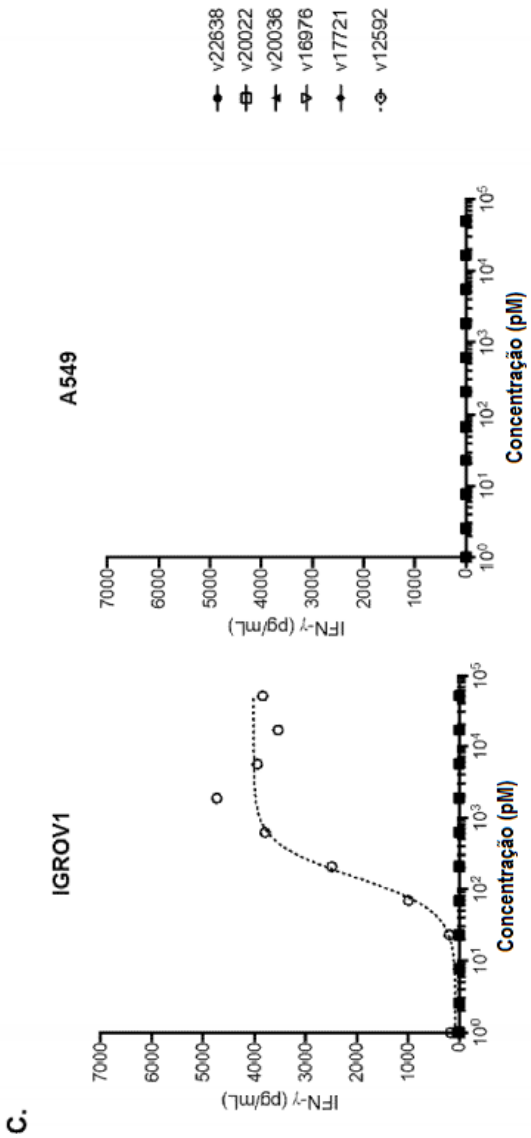
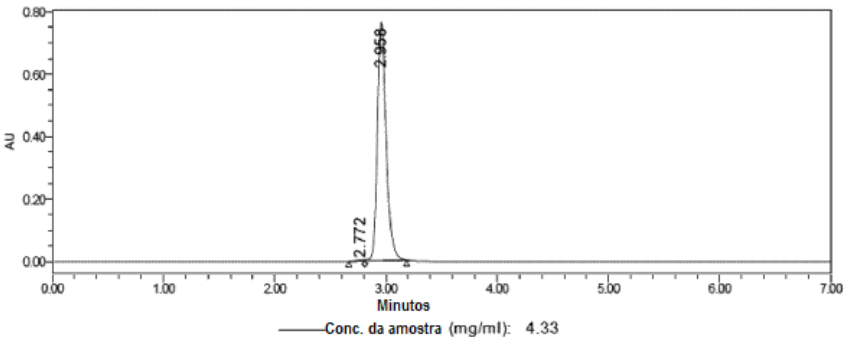

C.
IGROV1
A549
IFN-γ (pg/mL)
Concentração (pM)
v22638
v20022
v20036
v16976
v17721
v12592

FIG. 29 (cont.)

A.



	RT	% área	área	Altura
1	2.772	0.28	11855	2598
2	2.958	99.72	4164607	763246

B.

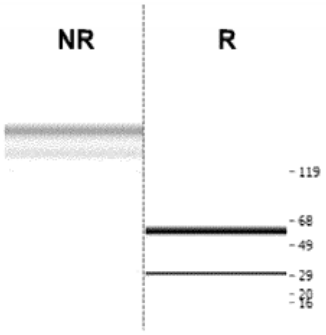
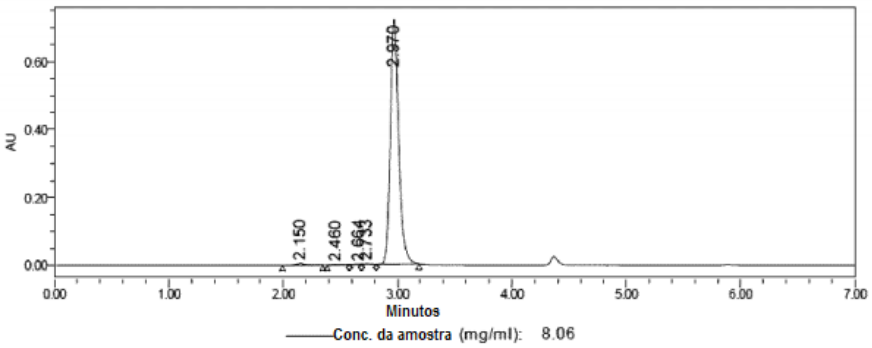


FIG. 30

C.

V23807 (pós proteína A)



	RT	% área	área	Altura
1	2.150	0.70	26108	5958
2	2.460	0.15	5569	898
3	2.664	0.21	7744	2028
4	2.733	0.37	13725	2506
5	2.970	98.57	3670313	722167

D.

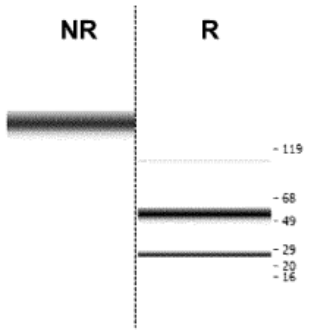


FIG. 30 (cont.)

FIG. 31 A

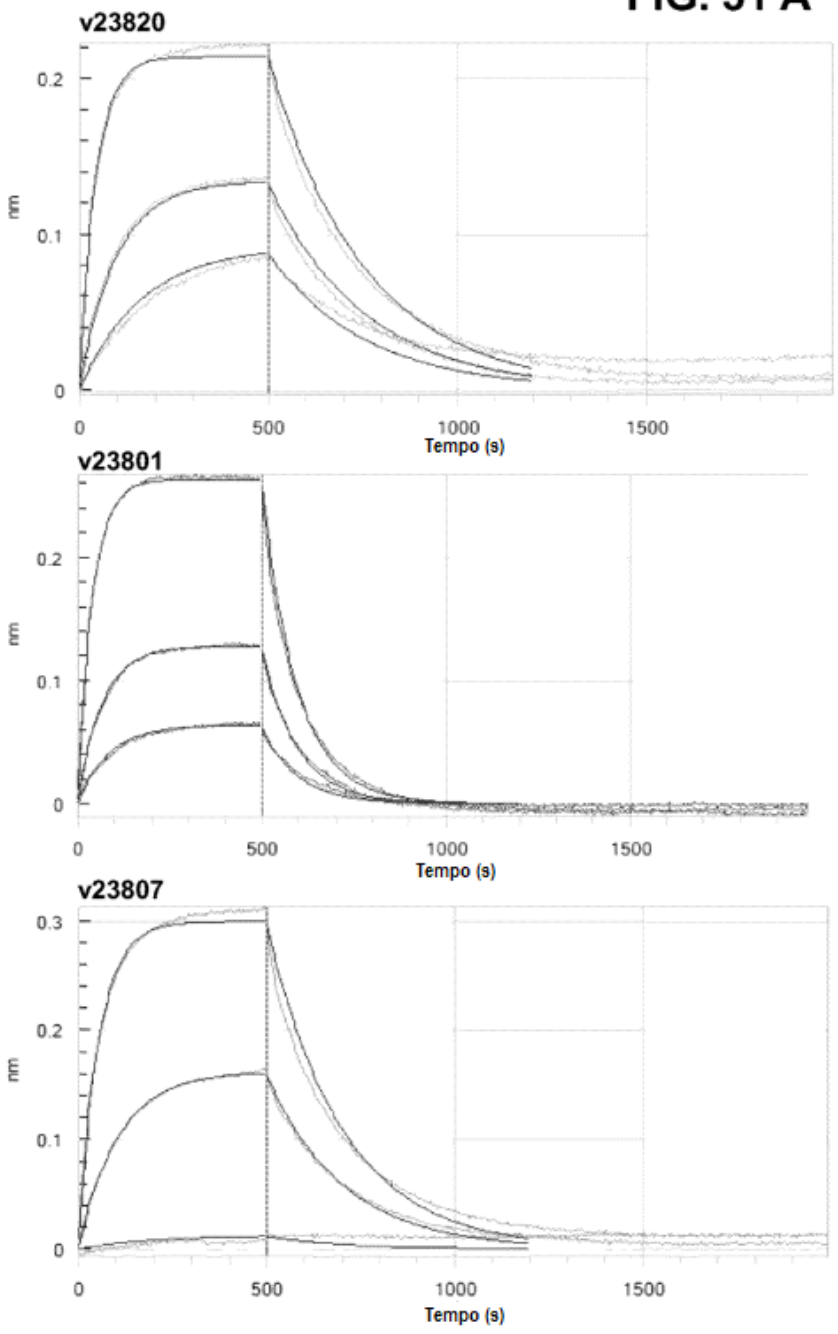
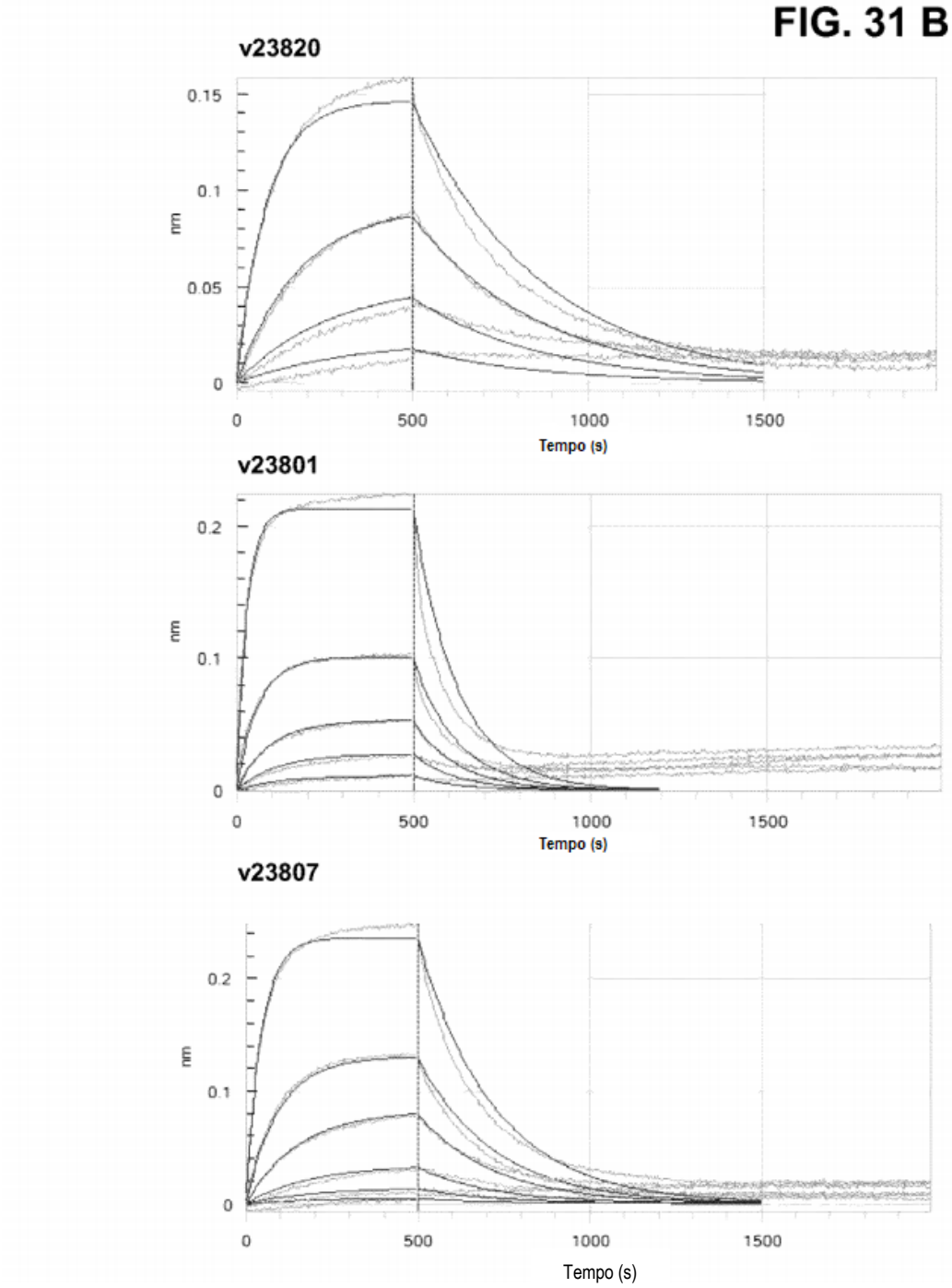

v23820
nm
0.2
0.1
0
0
500
1000
1500
Tempo (s)
v23801
nm
0.2
0.1
0
0
500
1000
1500
Tempo (s)
v23807
nm
0.3
0.2
0.1
0
0
500
1000
1500
Tempo (s)

FIG. 31 B


v23820
0.15
0.1
0.05
0
nm
0
500
1000
1500
Tempo (s)
v23801
0.2
0.1
0
nm
0
500
1000
1500
Tempo (s)
v23807
0.2
0.1
0
nm
0
500
1000
1500
Tempo (s)

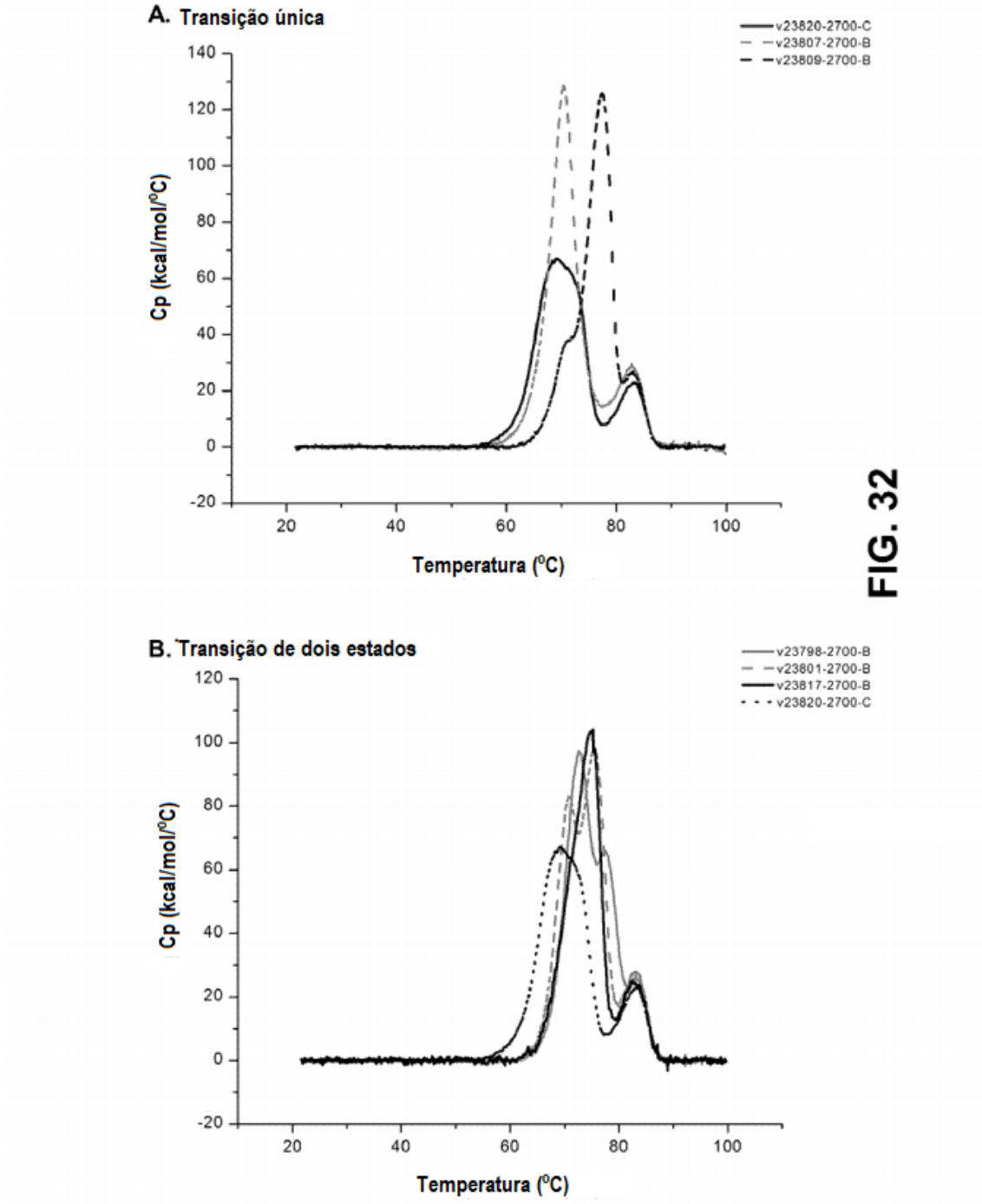
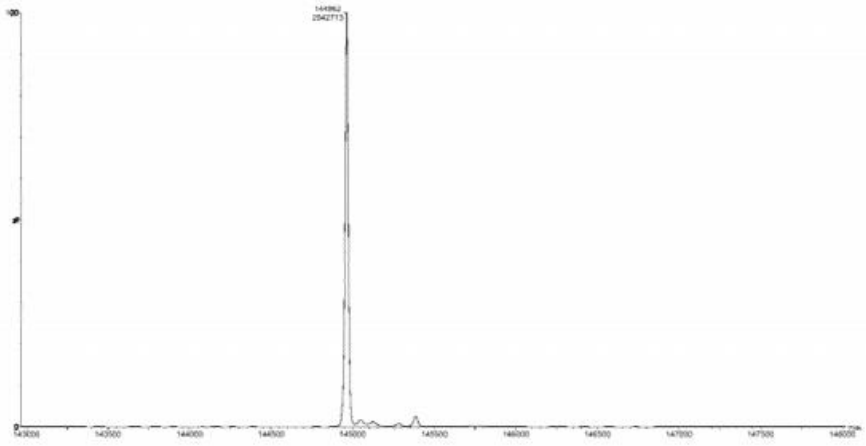

A. Transição única
v23820-2700-C
v23807-2700-B
v23809-2700-B
Cp (kcal/mol/°C)
Temperatura (°C)
B. Transição de dois estados
v23798-2700-B
v23801-2700-B
v23817-2700-B
v23820-2700-C
Cp (kcal/mol/°C)
Temperatura (°C)

FIG. 32

A. v23801



B. v23807

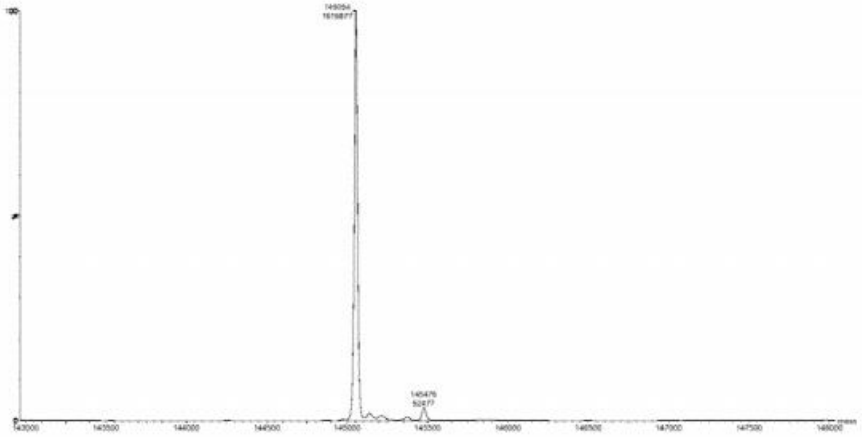


FIG. 33

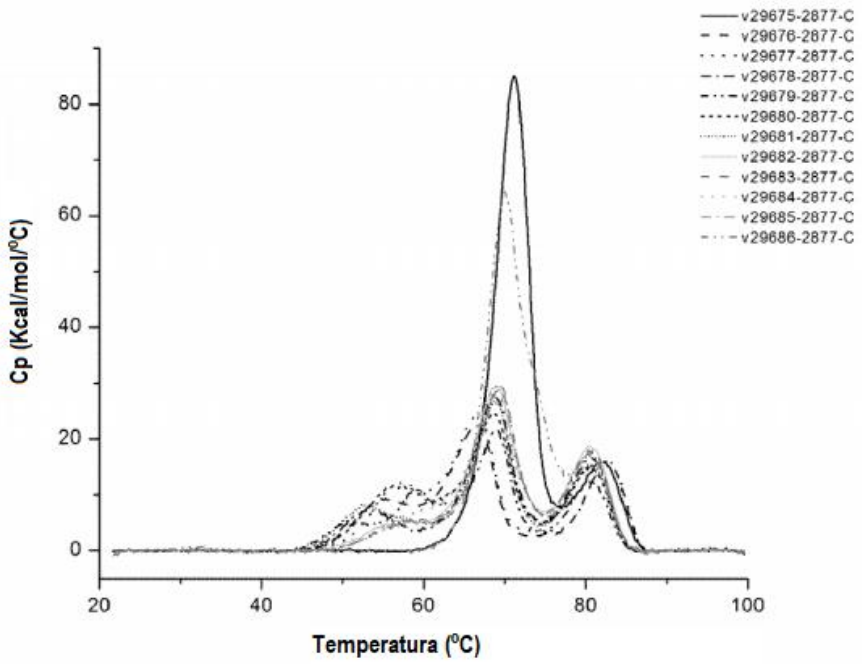

v29675-2877-C
v29676-2877-C
v29677-2877-C
v29678-2877-C
v29679-2877-C
v29680-2877-C
v29681-2877-C
v29682-2877-C
v29683-2877-C
v29684-2877-C
v29685-2877-C
v29686-2877-C
Cp (Kcal/mol/°C)
Temperatura (°C)
0
20
40
60
80
20
40
60
80
100

FIG. 34

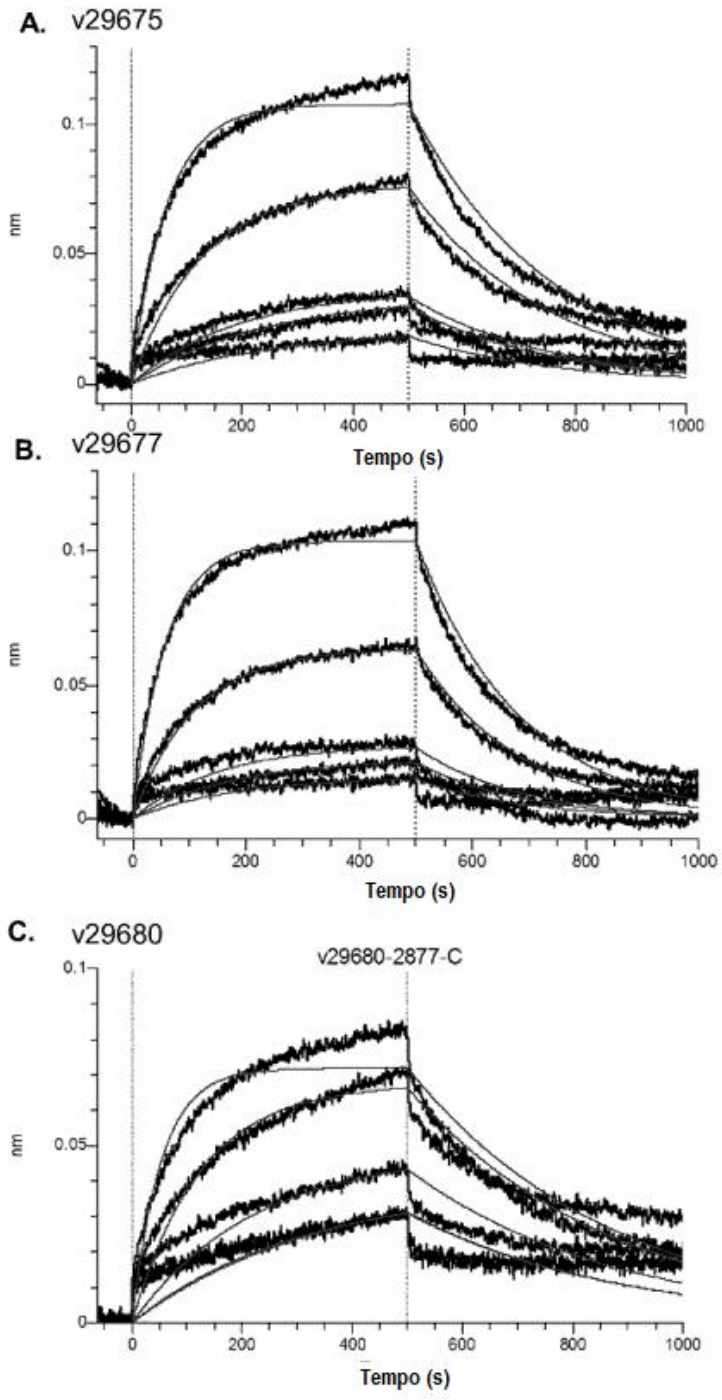

A.
v29675
nm
0.1
0.05
0
0
200
400
600
800
1000
Tempo (s)
B.
v29677
nm
0.1
0.05
0
0
200
400
600
800
1000
Tempo (s)
C.
v29680
v29680-2877-C
nm
0.1
0.05
0
0
200
400
600
800
1000
Tempo (s)

FIG. 35

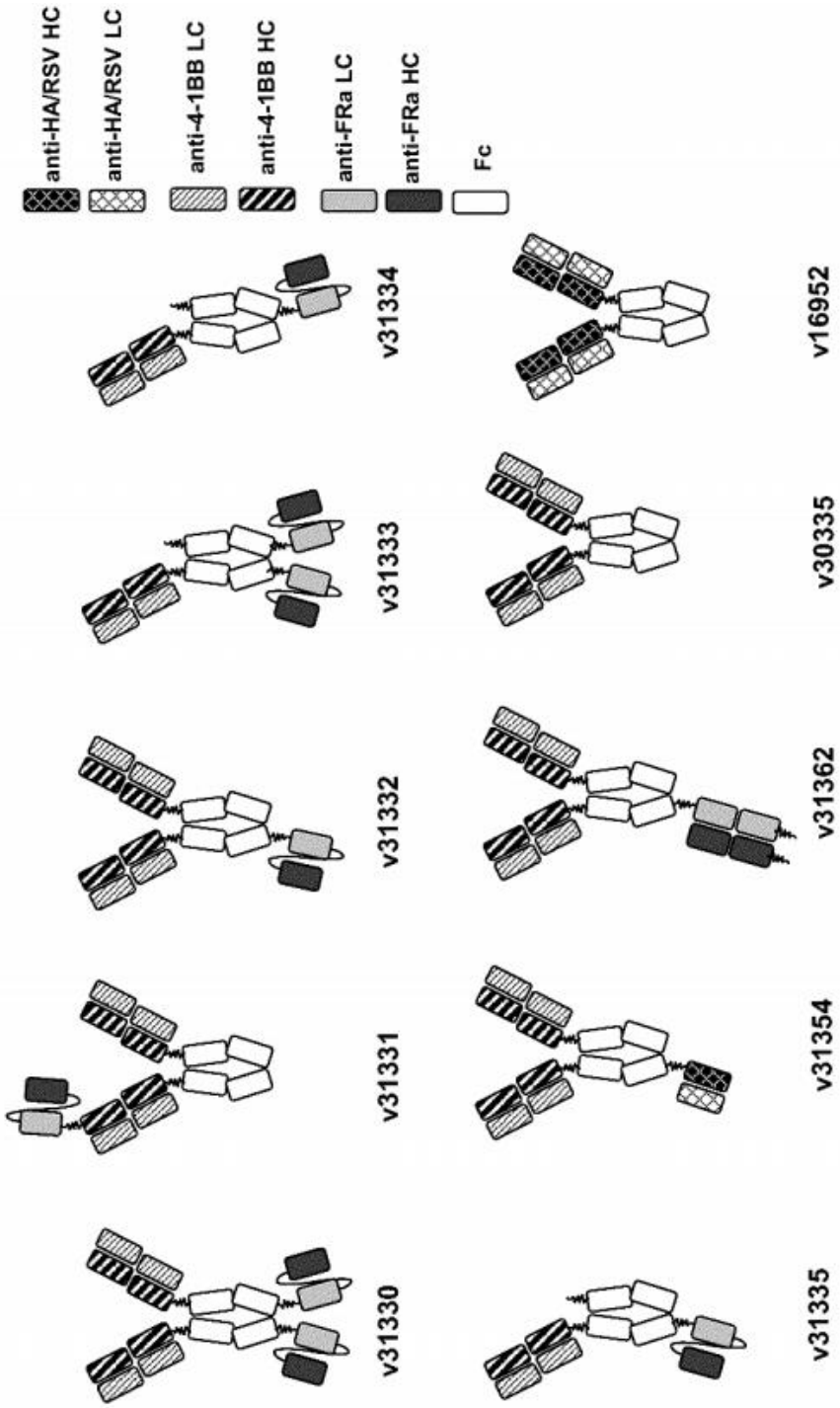

anti-HA/RSV HC
anti-HA/RSV LC
anti-4-1BB LC
anti-4-1BB HC
anti-FRa LC
anti-FRa HC
Fc
v31334
v16952
v31333
v30335
v31332
v31362
v31331
v31354
v31330
v31335

FIG. 36

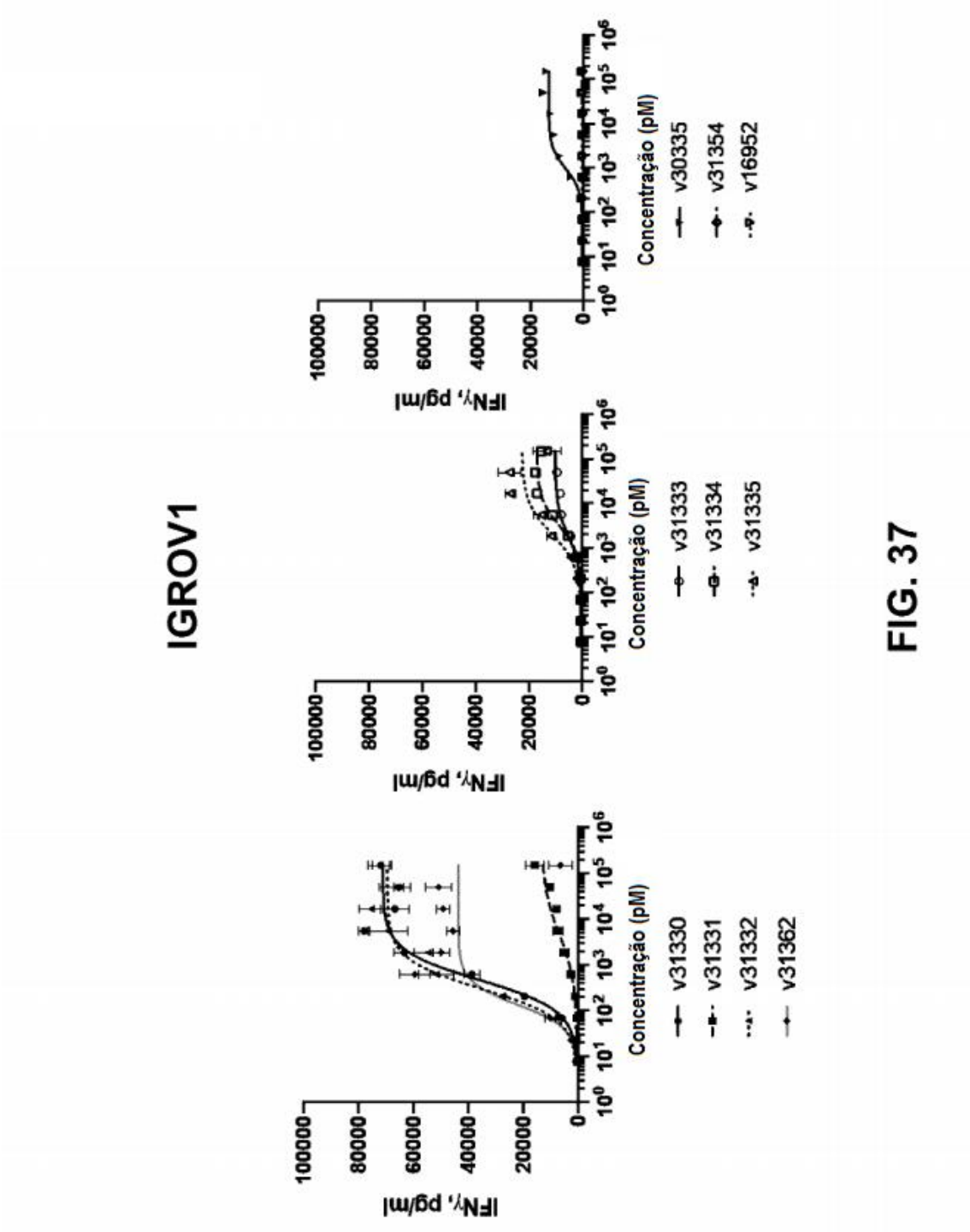

IGROV1
IFNγ, pg/ml
Concentração (pM)
v31330
v31331
v31332
v31362
v31333
v31334
v31335
v30335
v31354
v16952

FIG. 37

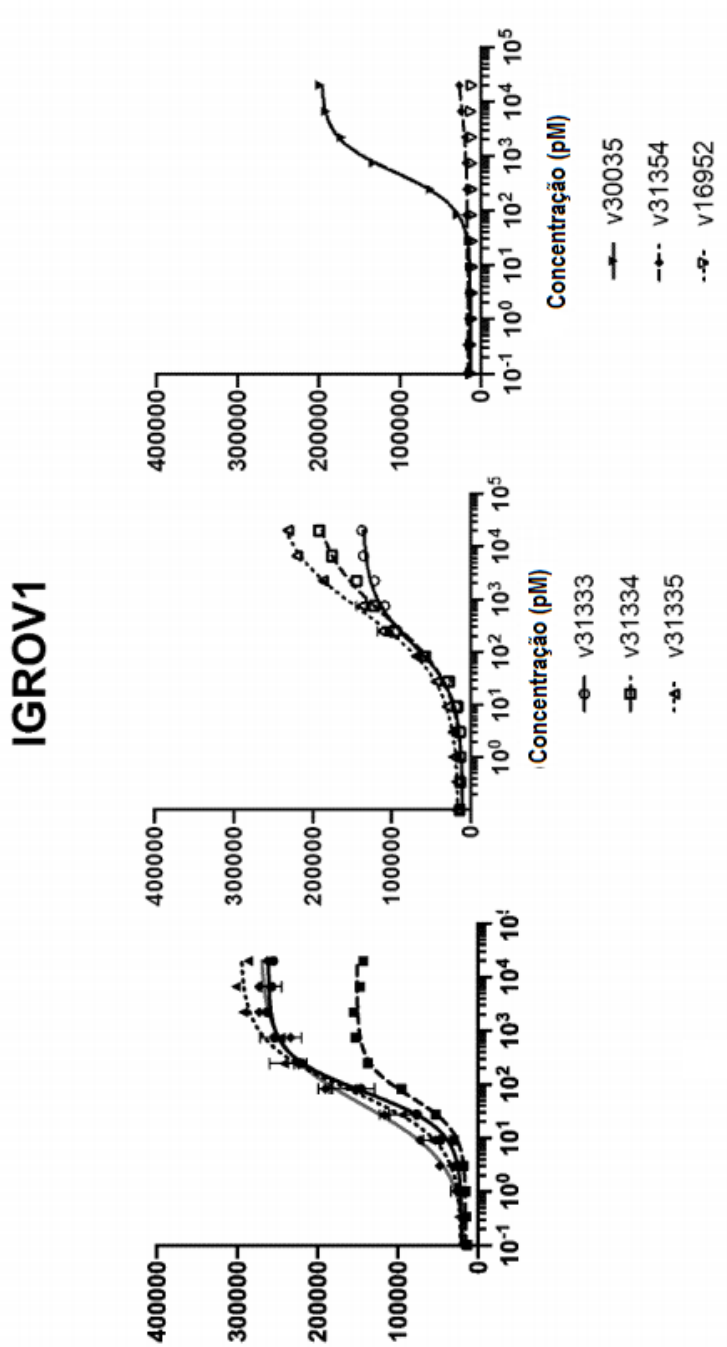

IGROV1
400000
300000
200000
100000
0
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
Concentração (pM)
v31333
v31334
v31335
v30035
v31354
v16952

FIG. 38A

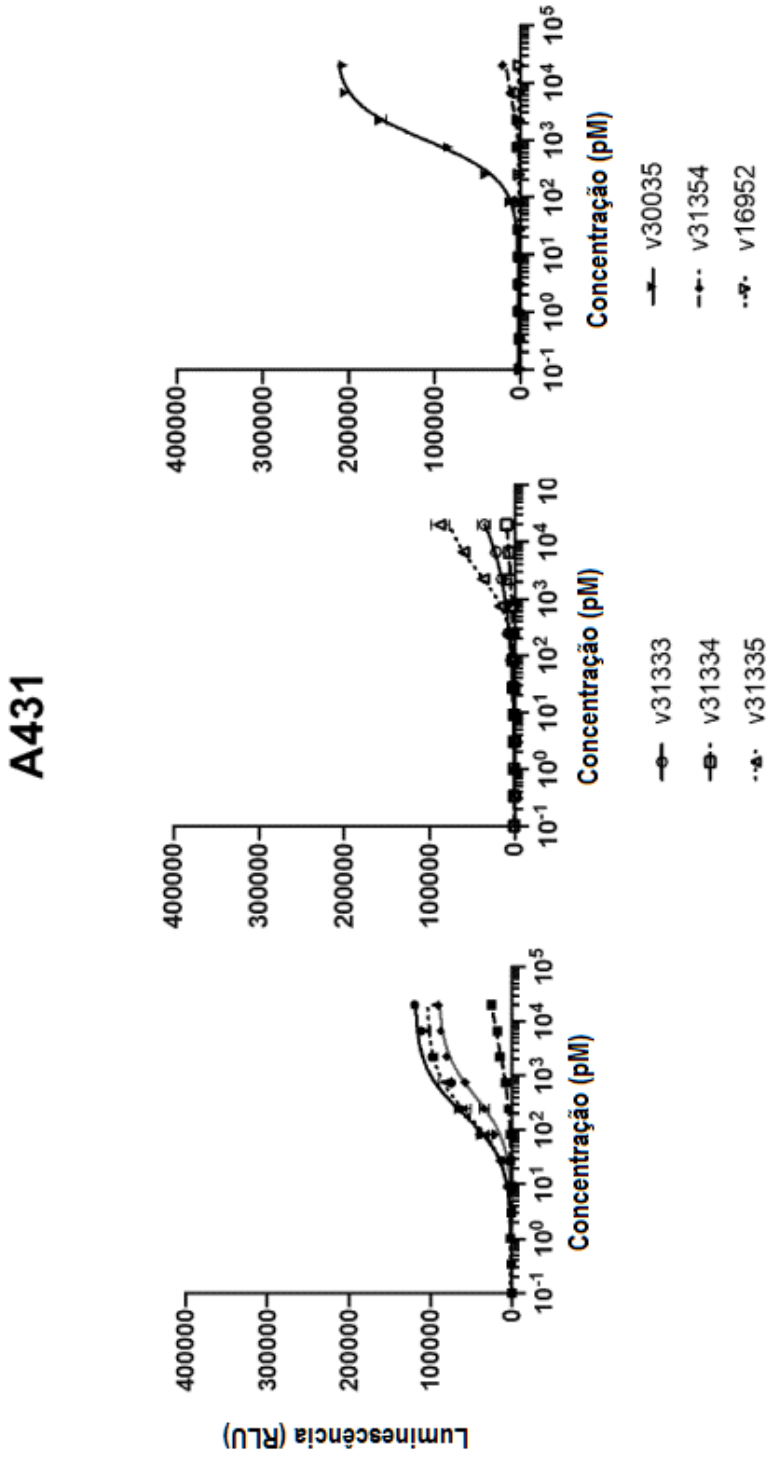

A431
Luminescência (RLU)
400000
300000
200000
100000
0
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
Concentração (pM)
v31333
v31334
v31335
v30035
v31354
v16952

FIG. 38B

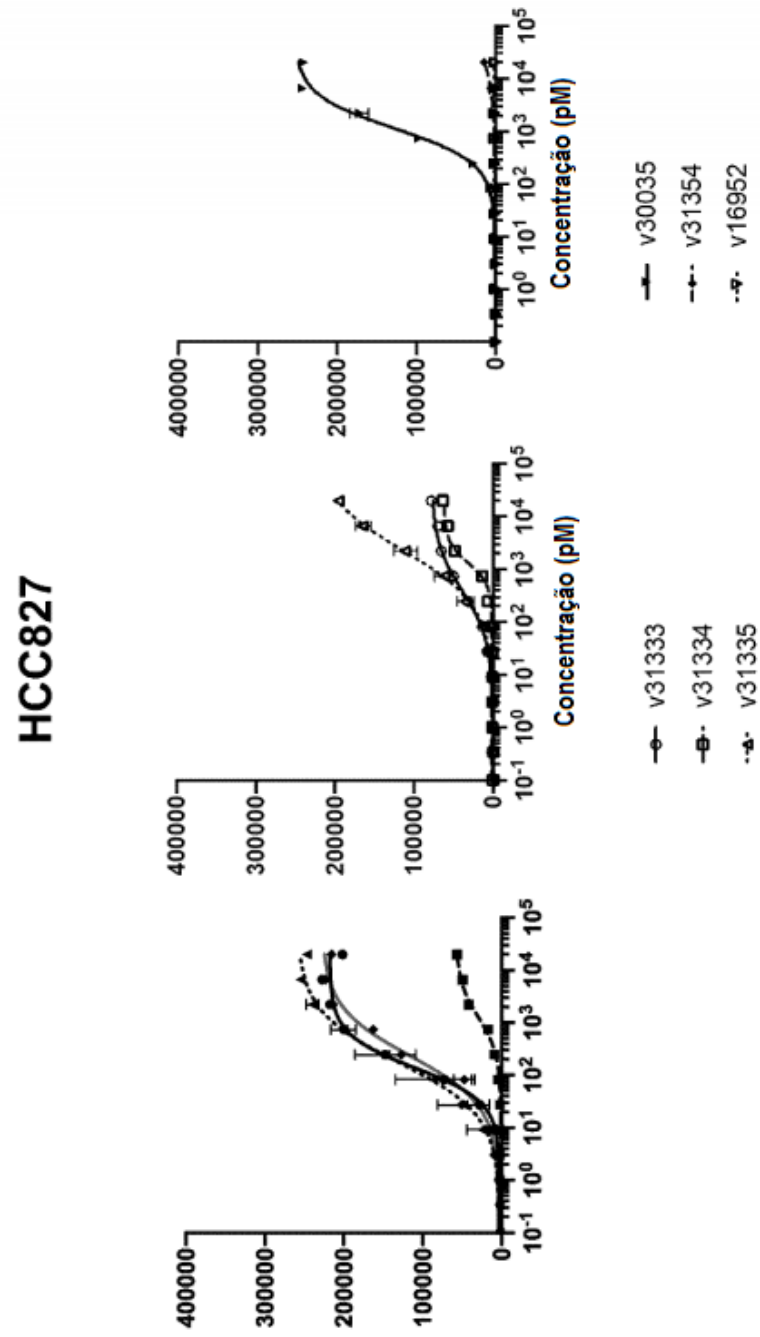

HCC827
400000
300000
200000
100000
0
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
Concentração (pM)
v31333
v31334
v31335
v30035
v31354
v16952

FIG. 38C

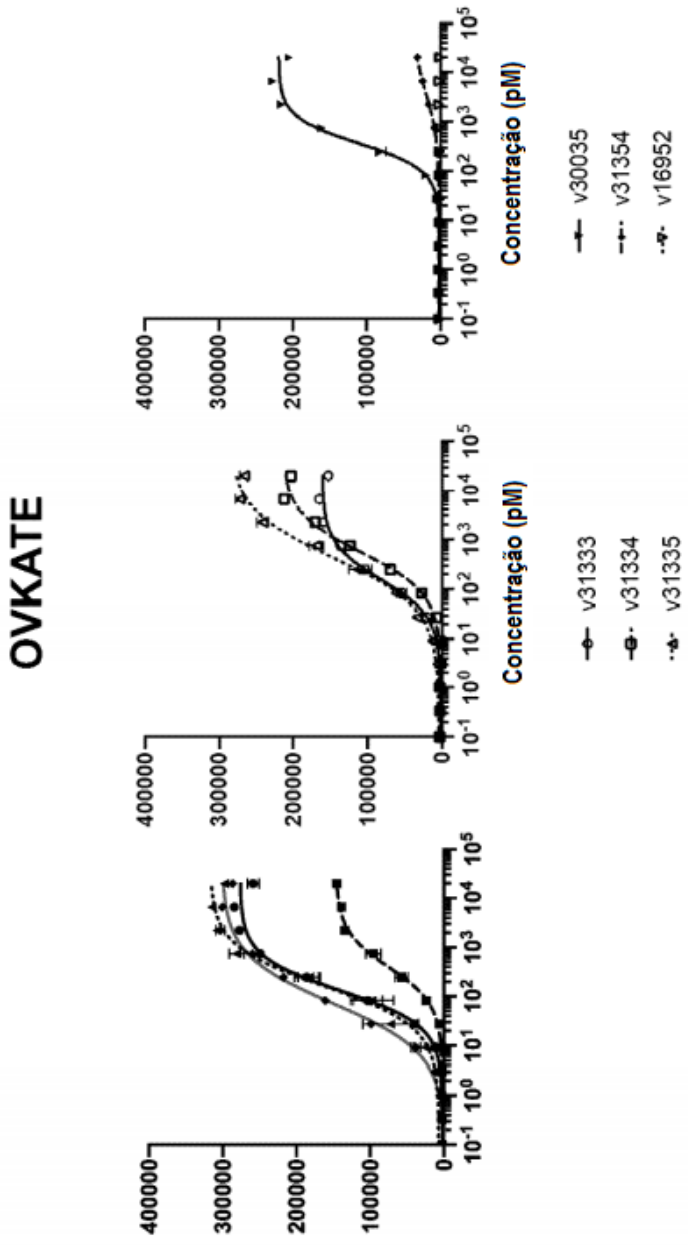

OVKATE
400000
300000
200000
100000
0
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
Concentração (pM)
v31333
v31334
v31335
v30035
v31354
v16952

FIG. 38D

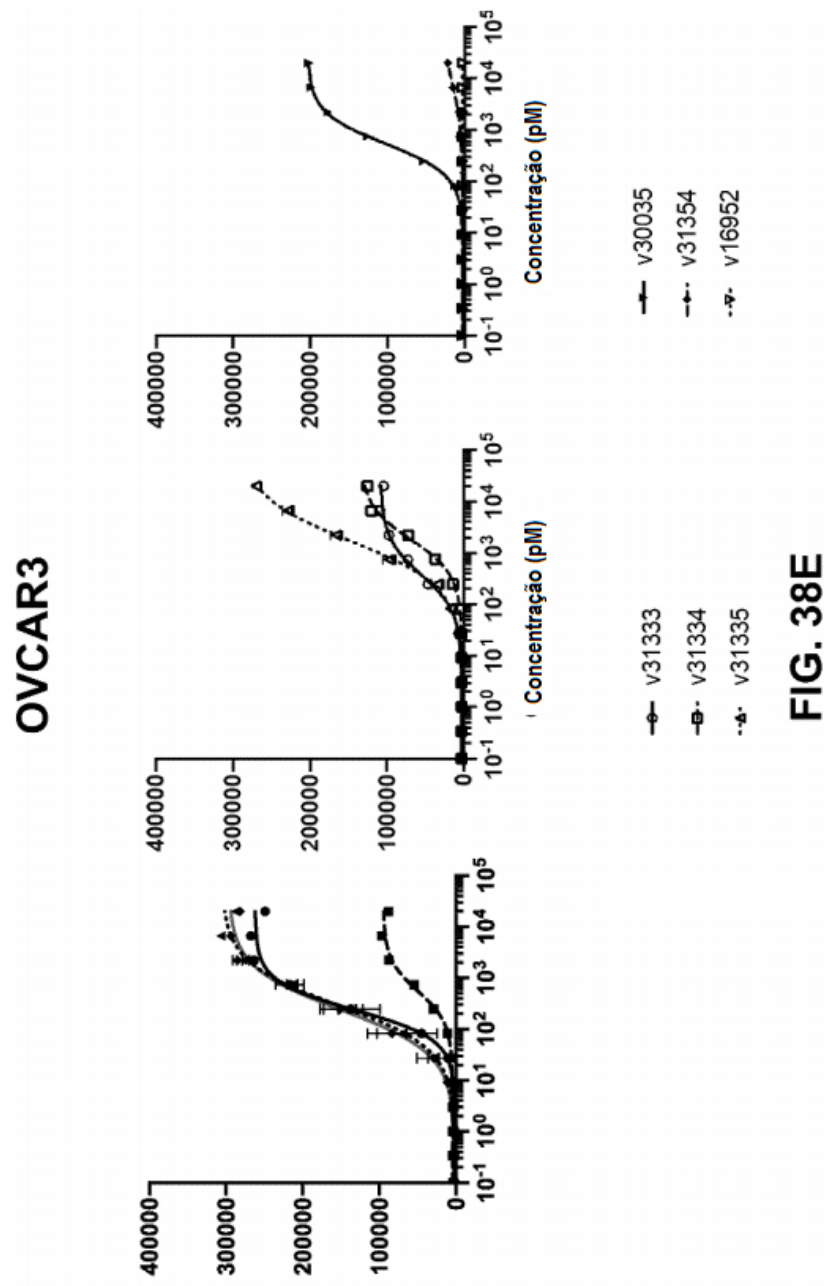

OVCAR3
400000
300000
200000
100000
0
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
Concentração (pM)
v31333
v31334
v31335
v30035
v31354
v16952

FIG. 38E

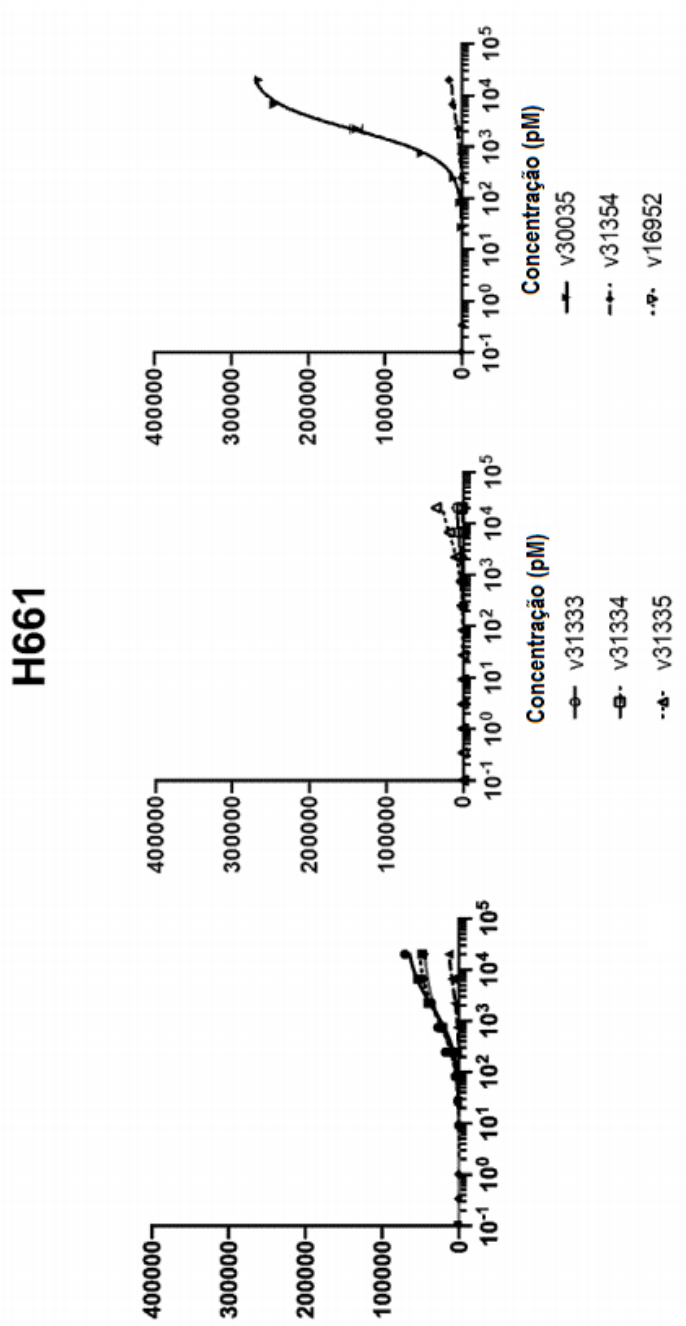

H661
400000
300000
200000
100000
0
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
Concentração (pM)
v30035
v31354
v16952
v31333
v31334
v31335

FIG. 38F

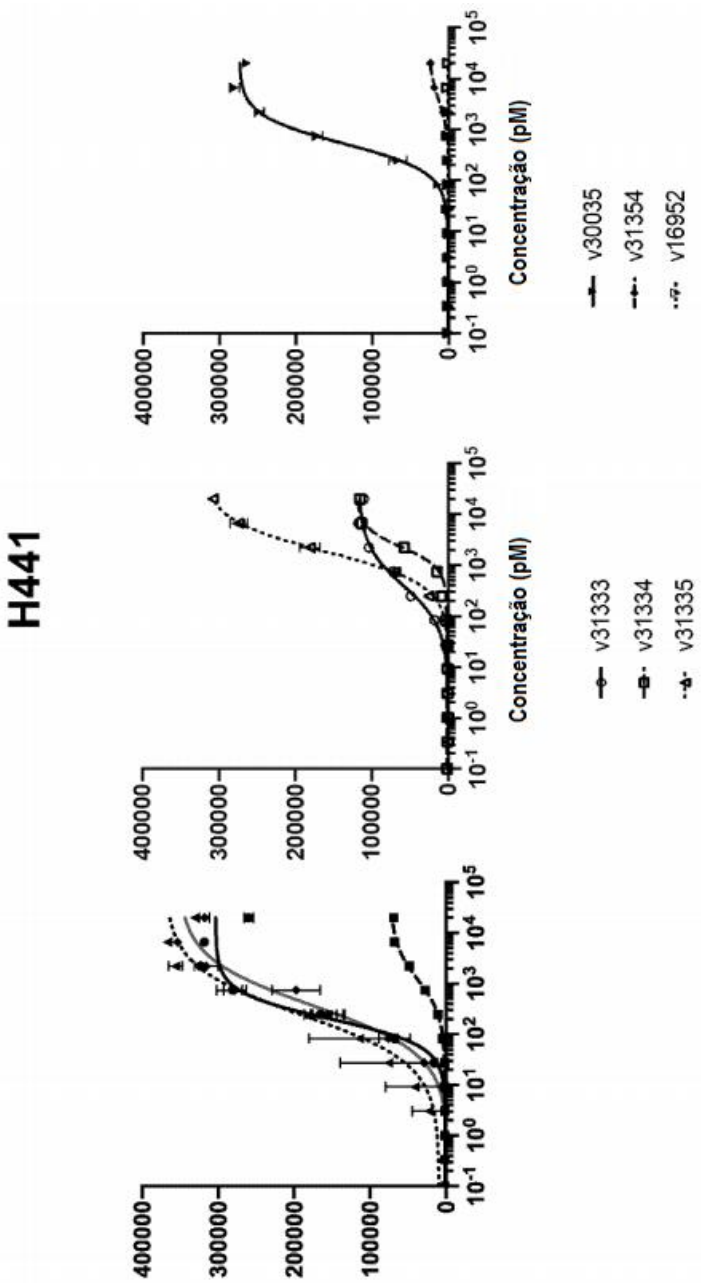

H441
400000
300000
200000
100000
0
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
Concentração (pM)
v31333
v31334
v31335
v30035
v31354
v16952

FIG. 38G

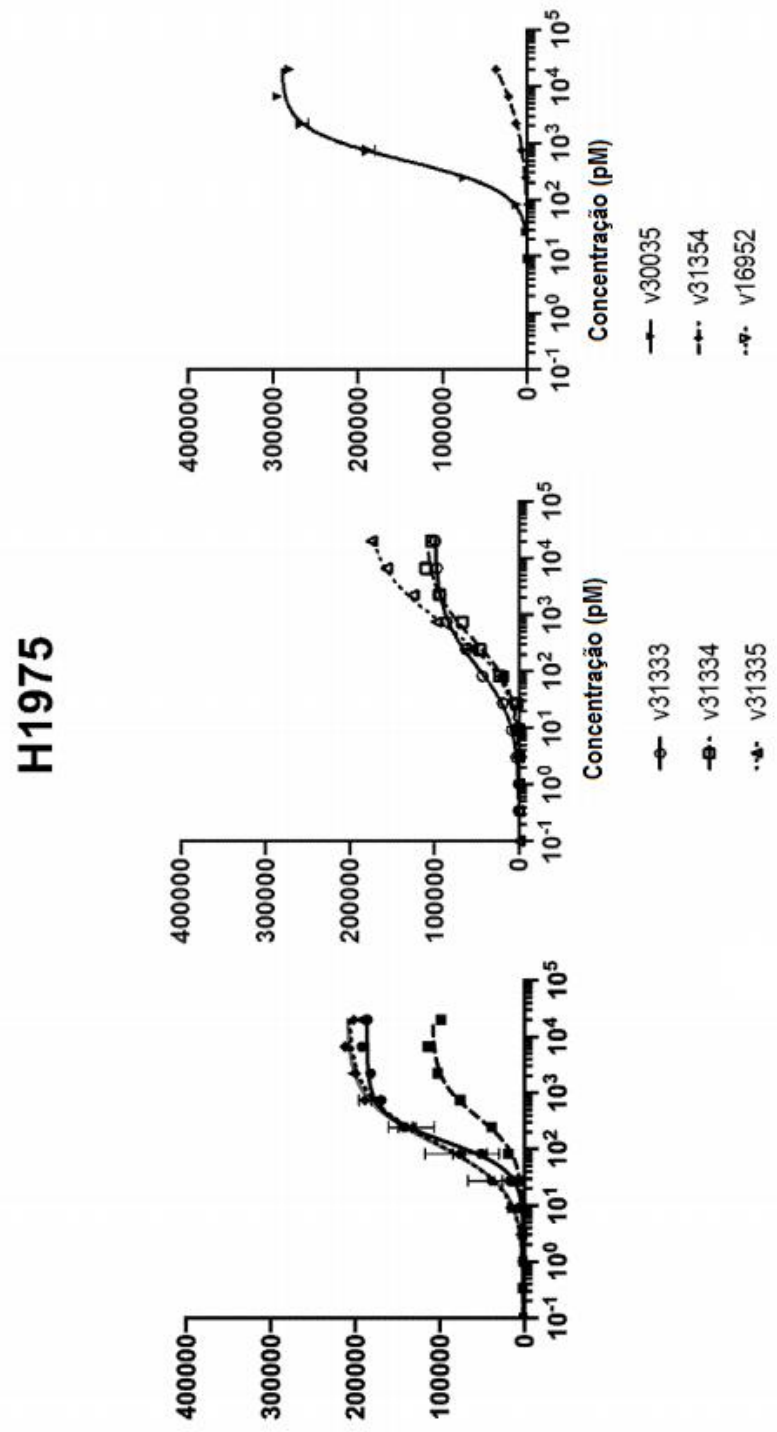

H1975
400000
300000
200000
100000
0
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
Concentração (pM)
v30035
v31354
v16952
v31333
v31334
v31335

FIG. 38H

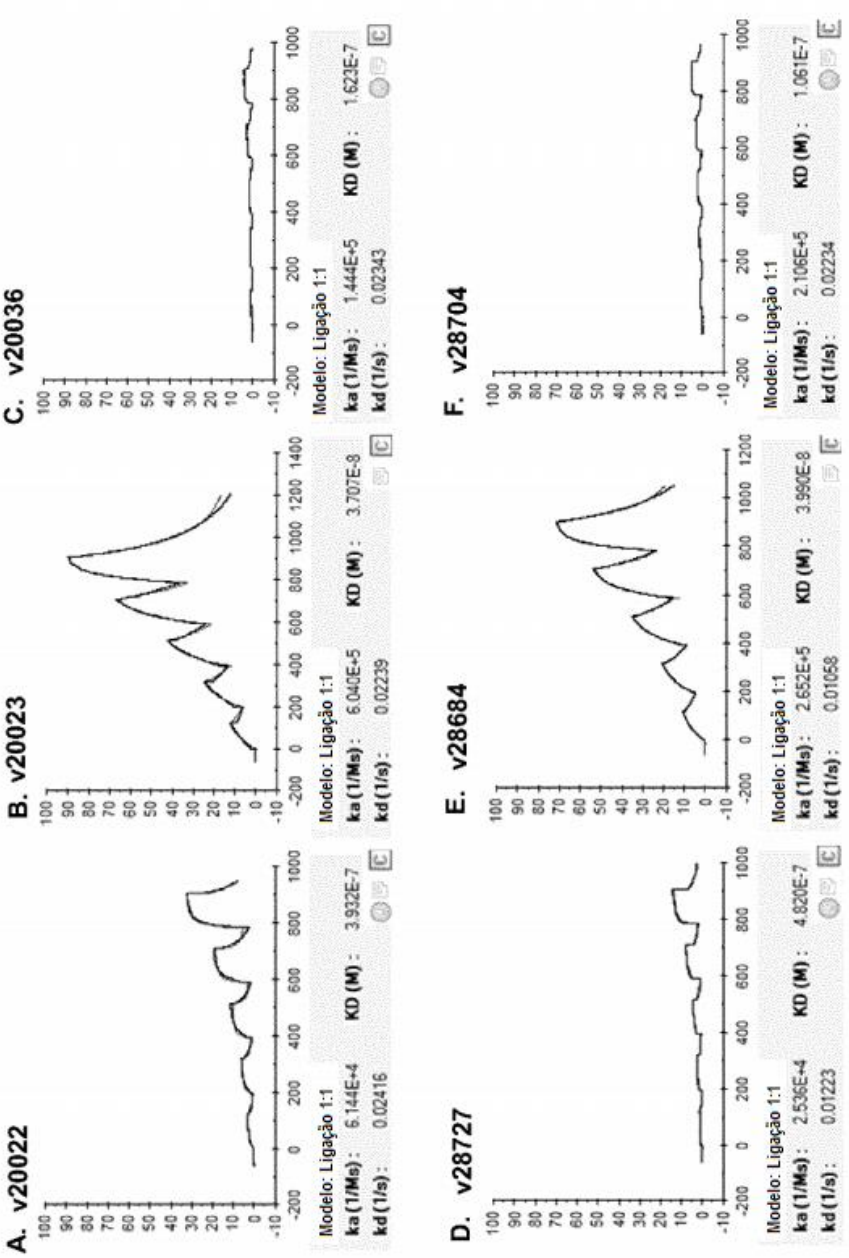

A. v20022
Modelo: Ligação 1:1
ka (1/Ms): 6.144E+4
KD (M): 3.932E-7
kd (1/s): 0.02416
B. v20023
Modelo: Ligação 1:1
ka (1/Ms): 6.040E+5
KD (M): 3.707E-8
kd (1/s): 0.02239
C. v20036
Modelo: Ligação 1:1
ka (1/Ms): 1.444E+5
KD (M): 1.623E-7
kd (1/s): 0.02343
D. v28727
Modelo: Ligação 1:1
ka (1/Ms): 2.536E+4
KD (M): 4.820E-7
kd (1/s): 0.01223
E. v28684
Modelo: Ligação 1:1
ka (1/Ms): 2.652E+5
KD (M): 3.990E-8
kd (1/s): 0.01058
F. v28704
Modelo: Ligação 1:1
ka (1/Ms): 2.106E+5
KD (M): 1.061E-7
kd (1/s): 0.02234

FIG. 39

A.
Coelho cadeia pesada
8K22 CDRs ligado em framework de linhagem germinativa
IGHV3-66*01 (H0) (SEQ ID NO:306)
1 11 21 26 36 46 50 59 69 79 86 95 103 113
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTISNNYYMC WVRQAPGKGLEWVS CIYGGISGRTY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR GYVGTSNL WGQGTLVTVSS
B.
Coelho cadeia leve
8K22 CDRs ligado em framework de linhagem germinativa
IGKV1-39*01 (L0) (SEQ ID NO:313)
1 11 21 24 35 45 50 57 67 77 87 89 95D 98 107
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQSIYSSLA WYQQKPGKAPKLLIY DASHLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QGGWYSSAATYVPNT FGGGTKLEIK

FIG. 40

RESUMO

CONSTRUTOS DE ANTICORPOS QUE SE LIGAM ESPECIFICAMENTE A 4-1BB OU FR*α*, MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E USOS DOS MESMOS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS, ÁCIDOS NUCLEICOS E VETORES

São descritos aqui construtos de anticorpo compreendendo um domínio de ligação 4-1BB e um domínio de ligação ao antígeno que se liga a um antígeno associado a tumor (TAA), em que o domínio de ligação 4-1BB e o domínio de ligação ao antígeno TAA estão ligados direta ou indiretamente a um andaime. O andaime pode ser um construto Fc com modificações que reduzem sua capacidade de mediar a função efetora.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1

Campo 2

Outras Informações:

- Nome do Arquivo: 1120210067841 - Listagem de Sequencias (Emendas
- Data de Geração do Código: 31/08/2021
- Hora de Geração do Código: 16:18:46
- Código de Controle:
    - Campo 1: 6572DDE61712E72E
    - Campo 2: 0D9364639CEA2D12