



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011150183/10, 11.05.2010

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
11.05.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
11.05.2009 EP 09006355.3;  
13.05.2009 EP 09006474.2

(43) Дата публикации заявки: 20.06.2013 Бюл. № 17

(45) Опубликовано: 20.12.2015 Бюл. № 35

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: Zhang YX et al: "AXL is a potential  
target for therapeutic intervention in breast  
cancer progression", Cancer Res., 2008 Mar 15;68  
(6). EA 9524 B1, 28.02.2008.

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 12.12.2011

(86) Заявка РСТ:  
EP 2010/056487 (11.05.2010)

(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2010/130751 (18.11.2010)

Адрес для переписки:  
109012, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО  
"Союзпатент", Е.В.Воробьевой

(72) Автор(ы):

ВИРТЦ Петер (DE),  
РУЭ Йенс (DE),  
ТАКИЗАВА Такеси (JP),  
ТАКАЯМА Томоко (JP)

(73) Патентообладатель(и):

УЗ ФАРМА ГмбХ (DE)

(54) ГУМАНИЗИРОВАННЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ AXL

(57) Реферат:

Изобретение относится к биохимии. Описано  
моноклональное гуманизированное антитело,  
которое специфически связывается с  
внеклеточным доменом рецепторной  
тирозинкиназы AXL и которое, по меньшей мере,  
частично ингибирует активность AXL.  
Представлена молекула нуклеиновой кислоты,  
кодирующая описанное антитело. Также  
представлен экспрессионный вектор и клетка-  
хозяин. Раскрыт способ производства описанного

антитела. Также раскрыта фармацевтическая  
композиция, содержащая описанное антитело.  
Описан способ диагностики состояния здоровья,  
связанного с экспрессией AXL. Раскрыто  
применение описанного антитела для лечения  
рака, устойчивого к лекарствам. Изобретение  
расширяет арсенал лекарственных средств, в  
частности, применяемых для терапии рака. 13 н.  
и 4 з.п. ф-лы, 39 ил., 2 табл., 29 пр.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 571 224** (13) **C2**  
(51) Int. Cl.  
*C07K 16/28* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2011150183/10, 11.05.2010**

(24) Effective date for property rights:  
**11.05.2010**

Priority:

(30) Convention priority:  
**11.05.2009 EP 09006355.3;**  
**13.05.2009 EP 09006474.2**

(43) Application published: **20.06.2013** Bull. № 17

(45) Date of publication: **20.12.2015** Bull. № 35

(85) Commencement of national phase: **12.12.2011**

(86) PCT application:  
**EP 2010/056487 (11.05.2010)**

(87) PCT publication:  
**WO 2010/130751 (18.11.2010)**

Mail address:  
**109012, Moskva, ul. Il'inka, 5/2, OOO "Sojuzpatent",**  
**E.V.Vorobevoj**

(72) Inventor(s):

**VIRTTs Peter (DE),**  
**RUEh Jens (DE),**  
**TAKIZAVA Takesi (JP),**  
**TAKAJaMA Tomoko (JP)**

(73) Proprietor(s):

**UZ FARMA GmbKh (DE)**

(54) **HUMANISED ANTI-AXL ANTIBODIES**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to biochemistry. Described monoclonal humanised antibody, which specifically binds with extracellular domain of receptor tyrosine kinase AXL and which, at least, partly inhibits AXL activity. Claimed is nucleic acid molecule, coding described antibody. Claimed is nucleic acid molecule, coding said antibody. Also claimed is expression vector and host cell. Disclosed is method of said antibody

production. Also disclosed is pharmaceutical composition, which contains described antibody. Described is method for diagnostics of health condition, associated with AXL expression. Disclosed is application of described antibody for treating drug-resistant cancer.

EFFECT: invention extends arsenal of medications, in particular, applied for cancer therapy.

17 cl, 39 dwg, 2 tbl, 29 ex

Настоящее изобретение касается гуманизированных моноклональных антител, которые связываются с внеклеточным доменом рецепторной тирозинкиназы AXL и которые, по меньшей мере, частично ингибируют активность AXL.

#### Уровень техники

5     Рецепторная тирозинкиназа AXL (Ark, UFO, Tyro-7) является членом семейства киназ Tyro-3, другими членами которого являются Mer (Eyk, Nyk, Tyro-12) и Sky (Rse, Tyro-3, Dtk, Etk, Brt, Tif). Она активируется при связывании гетерофильного лиганда Gas6, 70 кДа белка, гомологичного антикоагуляционному фактору - белку S. В отличие от других рецепторных протеинкиназ, фосфорилирование тирозина AXL может также  
10     индуцироваться посредством гомофильного связывания. Активация AXL приводит к включению сигнального пути через PI-3-киназу/Akt (Franke et al., *Oncogene* 22: 8983-8998, 2003) и других основных сигнальных путей, таких как Ras/Erk и  $\beta$ -катенин/TCF (Goruppi et al., *Mol. Cell Biol.* 21: 902-915, 2001).

AXL слабо экспрессируется в ряде нормальных тканей, включая мозг, сердце,  
15     скелетные мышцы, оболочки органов и соединительные ткани некоторых других органов, а также в моноцитах, но не в лимфоцитах. Индуцируемое AXL фосфорилирование Akt было описано в выживающих фибробластах (Goruppi et al., *Mol Cell Biol* 17: 4442-4453 1997), эндотелиальных клетках (Hasanbasic et al., *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004), клетках гладких мышц сосудов (Melaragno et al., *J. Mol. Cell*  
20     *Cardiol.* 37: 881-887, 2004) и нейронах (Alien et al., *Mol. Endocrinol.* 13: 191-201 1999). Более того, AXL играет роль в клеточной адгезии и хемотаксисе. Нокаут AXL демонстрирует ослабленную стабилизацию агрегатов тромбоцитов и образование тромба как результат пониженной активации интегрина P $\alpha$ 3 тромбоцитов.

Сверхэкспрессия AXL была продемонстрирована в различных типах раковых клеток,  
25     например, в клетках рака молочной железы (Meric et al., *Clin. Cancer Res.* 8: 361-367, 2002; Berclaz et al., *Ann. Oncol.* 12: 819-824, 2001), толстого кишечника (Chen et al., *Int. J. Cancer* 83: 579-584, 1999; Craven et al., *Int. J. Cancer* 60: 791-797, 1995), простаты (Jacob et al., *Cancer Detect. Prev.* 23: 325-332, 1999), легких (Wimmel et al., *Eur J Cancer* 37: 2264-2274, 2001), желудка (Wu et al., *Anticancer Res* 22: 1071-1078, 2002), яичников (Sun et al., *Oncology*  
30     66: 450-457, 2004), эндометрия (Sun et al., *Ann. Oncol.* 14: 898-906, 2003), почек (Chung et al., *DNA Cell Biol.* 22: 533-540, 2003), клеток печени (Tsou et al., *Genomics* 50:331-340, 1998), щитовидной железы (Ito et al., *Thyroid* 12:971-975, 2002; Ito et al., *Thyroid* 9: 563-567, 1999) и карциномы пищевода (Nemoto et al., 1997), кроме того, в клетках CML (хронической гранулоцитарной лейкемии) (Janssen et al., A novel putative tyrosine kinase  
35     receptor with oncogenic potential. *Oncogene*, 6: 2113-2120, 1991; Braunger et al., *Oncogene* 14: 2619-2631 1997; O'Bryan et al., *Mol Cell Biol* 11:5016-5031,1991), AML (острой миелобластной лейкемии) (Rochlitz et al., *Leukemia* 13: 1352-1358, 1999), остеосаркомы (Nakano et al., *J. Biol. Chem.* 270:5702-5705, 2003), меланомы (van Ginkel et al., *Cancer Res* 64:128-134, 2004) и клетках плоскоклеточной карциномы головы и шеи (Green et al., *Br*  
40     *J Cancer.* 2006 94:1446-5, 2006).

Более того, AXL был идентифицирован как ген, ассоциированный с метастазами, активность которого повышена в агрессивных клеточных линиях рака молочной железы по сравнению с неинвазивными клетками. Было обнаружено, что *in vitro* активность AXL необходима для миграции и инвазии, и эта активность может быть заингибирована  
45     путем обработки антителами (WO 04008147). Подобно этому, подавление активности AXL *in vivo*, либо путем экспрессии доминантной негативной версии AXL (Vajkoczy, P., et al., *Proc. Natl. Acad. Science U.S.A.* 103: 5799-5804. 2005), либо путем опосредованного siРНК снижения активности AXL (Holland et al., *Cancer Res.* 65: 9294-9303, 2005),

предотвращает подкожный или ортотопический рост клеток у мышей в экспериментах с ксенотрансплантатами.

К настоящему времени описаны антитела, которые связываются с AXL и обладают биологической активностью. Например, одно известное антитело способно снижать опосредованную AXL инвазию клеток (WO 04008147), тогда как другое антитело, как сообщалось, снижает эффективность взаимодействия AXL/Лиганд. Однако все известные антитела являются поликлональными или негуманизированными моноклональными антителами. Негуманизированные антитела, поликлональные или моноклональные, быстро удаляются из циркуляции и обычно вызывают системные воспалительные эффекты, что делает их непригодными для терапевтического применения.

Таким образом, в плане терапевтического потенциала AXL, существует острая потребность в моноклональных гуманизированных антителах против AXL, фрагментах антител или их производных, которые эффективно и специфически блокируют опосредуемую AXL передачу сигнала и которые являются пригодными для терапевтического лечения.

В соответствии с этим, первый аспект настоящего изобретения касается моноклонального гуманизированного антитела, включая его фрагмент или производное, которое связывается с внеклеточным доменом AXL, в частности AXL человека, и, по меньшей мере, частично ингибирует активность AXL.

Предпочтительно гуманизированное антитело настоящего изобретения обладает, по меньшей мере, одним или более из следующих свойств: способностью снижать или блокировать опосредуемую AXL передачу сигнала, способностью снижать или блокировать фосфорилирование AXL, способностью снижать или блокировать пролиферацию клеток, способностью снижать или блокировать ангиогенез, способностью снижать или блокировать миграцию клеток, способностью снижать или блокировать метастазирование опухоли и способностью снижать или блокировать опосредуемый AXL анти-апоптоз, увеличивая, таким образом, например, чувствительность клеток к обработке антинеопластическим агентом.

В соответствии с наиболее предпочтительным воплощением настоящего изобретения, описанные здесь гуманизированные антитела демонстрируют способность снижать и/или блокировать лиганд-индуцируемое фосфорилирование молекул, находящихся ниже в сигнальном пути AXL, таких как ERK1/2, AKT, GSK-3 $\beta$ , TSC2, mTOR и/или S6K1.

Более того, гуманизированные антитела настоящего изобретения могут проявлять высокую специфичность к AXL, в частности AXL человека, и незначительно распознавать других членов семейства Tyro-3, например, MER и/или SKY, и/или AXL млекопитающих, не являющихся приматами, такой как AXL мыши.

Термин «активность» в используемом здесь значении относится к биологической функции AXL, которая оказывает влияние на фенотип клетки, в частности, но этим не ограничиваясь, на раковые фенотипы, такие как устойчивость к апоптозу, самодостаточность в отношении ростовых сигналов, клеточная пролиферация, инвазия в ткани и/или метастазирование, нечувствительность к противоростовым сигналам (анти-апоптоз) и/или устойчивый ангиогенез.

Термин «опосредуемая AXL передача сигнала» означает активацию сигнальных путей с участием вторичного мессенжера, таких как расположенный ниже сигнальный путь, запускаемый прямым или непрямым взаимодействием AXL с молекулами вторичного мессенжера.

Термин «фосфорилирование AXL» относится к фосфорилированию аминокислотных остатков, предпочтительно остатков тирозина, либо вторым белком AXL



(трансфосфорилирование), либо другим белком, обладающим протеинкиназной активностью.

Термин «пролиферация клеток» относится ко всем процессам с участием AXL, лежащим в основе размножения клеток человека, в частности, но ими не ограничиваясь, раковых клеток человека. Эти процессы вносят свой вклад или приводят к репликации клеточной ДНК, разделению дуплицированной ДНК на две группы хромосом равного размера и физическое деление (называемое цитокинезом) целых клеток, и должны стимулироваться или быть опосредованными некаталитическими или каталитическими активностями AXL, предпочтительно включая фосфорилирование AXL и/или опосредуемую AXL передачу сигнала.

Термин «ангиогенез» относится ко всем процессам с участием AXL, которые вносят вклад в рост новых кровеносных сосудов из ранее существующих сосудов, в частности, но этим не ограничиваясь, новых кровеносных сосудов, снабжающих опухоль. Эти процессы включают множественные клеточные события, такие как пролиферация, выживание, миграция и прорастание эндотелиальных клеток сосудов, привлечение и миграция перицитов, а также образование базальной мембраны для стабилизации сосудов, кровоснабжение сосудов или секреция ангиогенных факторов клетками стромы или опухолевыми клетками, и должны стимулироваться или быть опосредованы некаталитической или каталитической активностями AXL, предпочтительно включая фосфорилирование AXL и/или опосредуемую AXL передачу сигнала.

Термин «метастазирование» относится ко всем процессам с участием AXL, которые обеспечивают распространение раковых клеток из первичной опухоли, проникновение в лимфатические и/или кровеносные сосуды, циркуляцию в кровотоке, и рост в отдаленном участке (метастазы) в нормальных тканях в другом месте в теле. В частности, этот термин относится к клеточным событиям в опухолевых клетках, таким как пролиферация, миграция, независимость в «заякоривании», избегание апоптоза или секреция ангиогенных факторов, что лежит в основе метастазирования и стимулируется или опосредуется некаталитической или каталитической активностями AXL, предпочтительно включая фосфорилирование AXL и/или опосредуемую AXL передачу сигнала.

Термин «опосредуемый AXL анти-апоптоз» относится ко всем процессам с участием AXL, которые защищают клетки человека, предпочтительно, но ими не ограничиваясь, раковые клетки человека, от программируемой гибели клеток (апоптоза). В частности, это относится к процессам, которые защищают клетки человека, предпочтительно, но ими не ограничиваясь, раковые клетки человека, от индукции апоптоза через удаление факторов роста, гипоксию, подвергание действию химиотерапевтических агентов или радиации, или инициацию сигнального каскада, опосредуемого рецептором Fas/Apo-1, и стимулируются или опосредуются некаталитической или каталитической активностями AXL, предпочтительно включая фосфорилирование AXL и/или опосредуемую AXL передачу сигнала.

Термин «участок» или «домен» являются в настоящем изобретении взаимозаменяемыми.

Антитела, обозначаемые как "11B7" и "11D5" в настоящем изобретении могут также обозначаться как "#11B7" и "#11D5" соответственно.

Согласно второму аспекту настоящего изобретения гуманизированные антитела, описываемые здесь, являются производными от одного из химерных (крыса/человек) антител против AXL 11B7 (аминокислотная последовательность его легкой и тяжелой цепей представлена SEQ ID NO: 135 и 136 соответственно), 11D5 (аминокислотная

последовательность его легкой и тяжелой цепей представлена SEQ ID NO: 137 и 138 соответственно), или 10D12 или антитела, распознающего тот же самый эпитоп на внеклеточном домене AXL человека. Особенно предпочтительно, чтобы гуманизированные антитела являлись производными от 11B7 и 11D5. Предпочтительно гуманизированное антитело содержит, по меньшей мере, одну мутацию в каркасном участке, по меньшей мере, одного переменного домена. Такие мутации могут быть введены любым методом, известным специалисту в данной области техники, для изменения аминокислотных последовательностей. Данная мутация заменяет предпочтительно аминокислоту в каркасном участке 11B7 или 11D5 на аминокислоту, которая является консервативной в каркасных участках антител человека. Методы для выявления консервативных или консенсусных аминокислот в каркасных участках антител человека, такие как, например, моделирование по гомологии с применением программ, таких как IgBLAST, известны специалисту в данной области техники.

Согласно другому предпочтительному воплощению гуманизированные антитела настоящего изобретения являются производными от антител против AXL, предпочтительно антител 11B7 или 11D5 против AXL человека, где каркасные участки, по меньшей мере, одного переменного домена антитела, предпочтительно 11B7 или 11D5, заменены на каркасные участки антитела человека или являются гуманизированными.

Связывающая активность антитела настоящего изобретения по отношению к AXL может быть определена методами, известными специалистам в данной области техники. Например, эта активность может быть определена с помощью поверхностного плазменного резонанса на приборе Biacore и/или методами ELISA (твердофазный иммуноферментный анализ), EIA (ферментативный иммуноанализ), RIA (радиоиммуноанализ) или методами с использованием флуоресцентно-меченых антител, например, FACS.

Предпочтительно гуманизированные антитела настоящего изобретения являются менее иммуногенными по сравнению с поликлональными или моноклональными негуманизированными антителами против AXL, такими как 11B7 или 11D5 крысы. Наряду с другими методами, известными специалистам в данной области техники, пониженная иммуногенность может быть определена методами НАНА или НАМА на основе ELISA (IBL-America, Minnesota / LiSrarFish, Italy). Более того, предпочтительно антитела настоящего изобретения не удаляются быстро из кровотока и не вызывают системных воспалительных ответов при введении пациенту.

Антитела настоящего изобретения могут иметь, по меньшей мере, один антиген-связывающий участок, например, один или два антиген-связывающих участка. Кроме того, антитело предпочтительно включает, по меньшей мере, одну тяжелую цепь иммуноглобулина и, по меньшей мере, одну легкую цепь иммуноглобулина. Цепь иммуноглобулина включает переменный домен и, не обязательно, константный домен. Переменный домен может включать участки, определяющие комплементарность (CDRs), например, участок CDR1, CDR2 и/или CDR3, и каркасные участки. Термин «участок, определяющий комплементарность» (complementary determining region, CDR) хорошо известен в данной области техники (смотри, например, Harlow and Lane, "Antibodies, a Laboratory Manual", CSH Press, Cold Spring Harbour, 1988) и обозначает последовательность аминокислот в пределах переменного участка антитела, которая в основном обеспечивает контакт с антигеном.

Согласно другому воплощению гуманизированные антитела настоящего изобретения являются производными от антитела 11B7 против AXL и могут включать

аминокислотную последовательность тяжелой цепи, выбираемую из группы, состоящей из последовательностей от SEQ ID NO:40 до SEQ ID NO:48, или, по меньшей мере, их вариабельный домен, или имеют аминокислотную последовательность, по меньшей мере, на 90% идентичную этим последовательностям и представляющую вариабельный

5 участок, обладающий связывающей активностью в отношении AXL, которая эквивалентна таковой вариабельного участка, имеющего идентичность последовательности 100%,

или аминокислотная последовательность вариабельного домена тяжелой цепи выбирается из группы, состоящей из последовательностей от SEQ ID NO:80 до SEQ ID

10 NO:82, или вариабельный домен имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере, на 90% идентичную этим последовательностям и представляющую вариабельный участок, обладающий связывающей активностью в отношении AXL, которая эквивалентна таковой вариабельного участка, имеющего идентичность последовательности 100%,

и/или аминокислотная последовательность легкой цепи выбирается из группы, состоящей из последовательностей от SEQ ID NO:18 до SEQ ID NO:30, или, по меньшей мере, вариабельный домен этой последовательности, или аминокислотная последовательность имеет, по меньшей мере, 90% идентичность с этими последовательностями и представляет собой вариабельный участок, обладающий

15 связывающей активностью в отношении AXL, которая эквивалентна таковой вариабельного участка, имеющего идентичность последовательности 100%,

или аминокислотная последовательность вариабельного домена легкой цепи выбирается из группы, состоящей из последовательностей от SEQ ID NO:73 до SEQ ID NO:79, или аминокислотная последовательность имеет, по меньшей мере, 90%

20 идентичность с этими последовательностями и представляет собой вариабельный участок, обладающий связывающей активностью в отношении AXL, которая эквивалентна таковой вариабельного участка, имеющего идентичность последовательности 100%,

или фрагмент этой последовательности, распознающий тот же самый эпитоп на

30 внеклеточном домене AXL. Описание последовательностей согласно настоящему изобретению приведено ниже в разделе «Описание Последовательностей» и в Списке Последовательностей.

Согласно другому дополнительному аспекту гуманизированные антитела настоящего изобретения являются производными от антитела 11B7 против AXL и могут включать

35 аминокислотную последовательность тяжелой цепи, выбираемую из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO:150 и SEQ ID NO:151, или, по меньшей мере, вариабельный домен этой последовательности, или аминокислотная последовательность имеет, по меньшей мере, 90% идентичность с этими последовательностями и представляет собой вариабельный участок, обладающий связывающей активностью в

40 отношении AXL, которая эквивалентна таковой вариабельного участка, имеющего идентичность последовательности 100%,

и/или аминокислотную последовательность легкой цепи, выбираемую из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO:146 и SEQ ID NO:147, или, по меньшей мере, вариабельный домен этой последовательности, или аминокислотная

45 последовательность имеет, по меньшей мере, 90% идентичность с этими последовательностями и представляет собой вариабельный участок, обладающий связывающей активностью в отношении AXL, которая эквивалентна таковой вариабельного участка, имеющего идентичность последовательности 100%.

В конкретном предпочтительном воплощении гуманизированные антитела h#NB7 выбираются из группы, состоящей из антител h#1 1B7-T1, h#1 1B7-T2, h#1 1B7-T3, h#1 1B7-T4, h#NB7-T5, h#NB7-T6, h#NB7-T7, h#NB7-T8, ЫШВ7-T9, h#NB7-T10, h#1 1B7-T11, h#NB7-T12, h#NB7-T13, h#NB7-T14, h#NB7-T15, h#NB7-T16, h#NB7-T17, h#NB7-T18, 5 ЫЛ1В7-T19, h#NB7-T20, h#NB7-T21, h#NB7-T22, М11В7-T23, h#NB7-T24, h#NB7-T25, h#NB7-T26, и h#NB7-T27. Таблица 1 (Пример 10) суммирует, какими комбинациями специфических гуманизированных аминокислотных последовательностей тяжелых и легких цепей, соответственно, и какой комбинацией соответствующих экспрессионных векторов характеризуются указанные выше гуманизированные антитела h#1 1B7 в 10 настоящем изобретении.

В другом конкретном предпочтительном воплощении гуманизированные антитела h#NB7 выбираются из группы, состоящей из антител h#NB7-T28, h#NB7-T29, h#NB7-T30 и h#NB7-T31. Таблица 2 (Пример 22) суммирует, какими комбинациями специфических гуманизированных аминокислотных последовательностей тяжелых и 15 легких цепей, соответственно, и какой комбинацией соответствующих экспрессионных векторов характеризуются указанные выше гуманизированные антитела h#NB7 в настоящем изобретении.

Гуманизированное антитело, происходящее от моноклонального антитела #11B7 крысы против AXL человека, не ограничивается специфическими антителами, 20 показанными в качестве примеров в предшествующих абзацах, до тех пор, пока указанное гуманизированное антитело содержит все шесть участков CDRs и проявляет связывающую активность в отношении антигена AXL. Указанное гуманизированное антитело содержит CDRH1 (SNYWG; SEQ ID NO:124), CDRH2 (YITYSGSTSYNPSLKS; SEQ ID NO:125) и CDRH3 (TTFYY; SEQ ID NO:126) в своей тяжелой цепи, и CDRL4 25 (RASQDIGNYLR; SEQ ID NO:121), CDRL5 (GATNLAA; SEQ ID NO:122) и CDRL6 (LQSKESPWT; SEQ ID NO:123) в своей легкой цепи соответственно.

Согласно дополнительному воплощению гуманизированные антитела настоящего изобретения являются производными от 11D5 и включают аминокислотную последовательность тяжелой цепи, выбираемую из группы, состоящей из 30 последовательностей от SEQ ID NO:67 до SEQ ID NO:72, или, по меньшей мере, переменного домена этой последовательности, или аминокислотной последовательности, имеющей, по меньшей мере, 90% идентичность с этими последовательностями и представляющей собой переменный участок, обладающий связывающей активностью в отношении AXL, которая эквивалентна таковой 35 переменного участка, имеющего идентичность последовательности 100%, или аминокислотная последовательность переменного домена тяжелой цепи выбирается из группы, состоящей из последовательностей от SEQ ID NO:114 до SEQ ID NO:120, или аминокислотной последовательности, имеющей, по меньшей мере, 90% идентичность с этими последовательностями и представляющей собой переменный 40 участок, обладающий связывающей активностью в отношении AXL, которая эквивалентна таковой переменного участка, имеющего идентичность последовательности 100%,

и/или аминокислотная последовательность легкой цепи выбирается из группы, состоящей из последовательностей от SEQ ID NO:55 до SEQ ID NO:60, или, по меньшей 45 мере, переменного домена этой последовательности, или аминокислотной последовательности, имеющей, по меньшей мере, 90% идентичность с этими последовательностями и представляющей собой переменный участок, обладающий связывающей активностью в отношении AXL, которая эквивалентна таковой

вариабельного участка, имеющего идентичность последовательности 100%,

или аминокислотная последовательность вариабельного домена легкой цепи выбирается из группы, состоящей из последовательностей от SEQ ID NO:83 до SEQ ID NO:113,

- 5 или аминокислотной последовательности, имеющей, по меньшей мере, 90% идентичность с этими последовательностями и представляющей собой вариабельный участок, обладающий связывающей активностью в отношении AXL, которая эквивалентна таковой вариабельного участка, имеющего идентичность последовательности 100%, или его фрагмент, распознающий тот же самый эпитоп на  
10 внеклеточном домене AXL.

В конкретном предпочтительном воплощении гуманизированные антитела h#HD5 выбираются из группы, состоящей из антител h#11D5-T1, h#11D5-T2, h#11D5-T3, h#11D5-T4, h#HD5-T5 или h#HD5-T6. Примеры 11, 12 и 14 показывают, какими комбинациями специфических гуманизированных аминокислотных последовательностей тяжелых и  
15 легких цепей, соответственно, и какой комбинацией соответствующих экспрессионных векторов характеризуются указанные выше гуманизированные антитела h#11D5.

Одним из предпочтительных воплощений настоящего изобретения является гуманизированное антитело, имеющее относительно высокую среднюю точку термоденатурации (T<sub>m</sub>). В настоящем изобретении гуманизированное антитело имеет  
20 T<sub>m</sub>, по меньшей мере, 70°C, предпочтительно T<sub>m</sub>, по меньшей мере, 75°C, более предпочтительно T<sub>m</sub>, по меньшей мере, 78°C, еще более предпочтительно T<sub>m</sub>, по меньшей мере, 80°C, все еще более предпочтительно 82°C. Или в настоящем изобретении гуманизированное антитело имеет T<sub>m</sub>, эквивалентную T<sub>m</sub> его предшественника - антитела крысы или химерного антитела, но предпочтительно T<sub>m</sub>, по меньшей мере,  
25 на 3°C выше, более предпочтительно T<sub>m</sub>, по меньшей мере, на 6°C выше, еще более предпочтительно T<sub>m</sub>, по меньшей мере, на 8°C выше, все еще более предпочтительно T<sub>m</sub>, по меньшей мере, на 10°C выше, чем T<sub>m</sub> его предшественника - антитела крысы или химерного антитела. Такое предпочтительное, более предпочтительное, еще более предпочтительное или все еще более предпочтительное гуманизированное антитело  
30 является менее склонным к денатурации (разворачиванию) или инактивации и является пригодным для приготовления в форме растворов, которые могут стабильно храниться в течение длительного времени.

Гуманизированное антитело, происходящие от моноклонального антитела #11D5 крысы против AXL человека, не ограничивается специфическими антителами,  
35 показанными в качестве примеров в предшествующих абзацах, до тех пор, пока указанное гуманизированное антитело содержит все шесть участков CDRs и проявляет связывающую активность в отношении антигена AXL. Указанное гуманизированное антитело содержит CDRH1 (SNYWG; SEQ ID NO:130), CDRH2 (HITNSGNTTYNPSLKS; SEQ ID NO:131) и CDRH3 (GAFDY; SEQ ID NO:132) в своей тяжелой цепи и CDRL4  
40 (RASQDIGNYLS; SEQ ID NO:127), CDRL5 (GAIKLAV; SEQ ID NO:128) и CDRL6 (LQYIQFPLT; SEQ ID NO:129) в своей легкой цепи соответственно.

Другое предпочтительное воплощение настоящего изобретения представляет собой антитело, которое (специфически) связывает или распознает один из IG-доменов около С-конца (домен, включающий аминокислотные остатки аминокислот NOS. 129-220 в  
45 базе данных белков NCBI, ACCESSION No.P\_30530; SEQ ID NO:139; Фигура 30A), Такое предпочтительное антитело не ограничивается гуманизированным антителом, но может быть антителом человека или функциональным фрагментом одного из них. Более предпочтительно, такое предпочтительное антитело ингибирует, по меньшей мере,

одну из биологических активностей, которыми обладает AXL.

Антитело (полноразмерное) настоящего изобретения может быть получено, например, путем выполнения следующих стадий: конструирование вектора для экспрессии тяжелых цепей и вектора для экспрессии легких цепей, где каждый из указанных векторов  
 5 содержит вставку, включающую вариабельный участок и константный участок; введение указанных векторов в клетку-хозяина; культивирование указанной клетки; выделение полипептидов антитела из культурального супернатанта (кондиционированной среды), как описано в Примерах с 9 по 12.

В используемом здесь значении «идентичность последовательностей» между двумя  
 10 полипептидными последовательностями указывает процент аминокислот, которые являются идентичными в данных последовательностях. Методы для определения «идентичности последовательностей» между двумя данными полипептидными последовательностями известны специалистам в данной области техники.

Предпочтительные полипептидные последовательности настоящего изобретения имеют  
 15 идентичность последовательностей, по меньшей мере, 90%, более предпочтительно, по меньшей мере, 95% и еще более предпочтительно, по меньшей мере, 98%. Идентичность последовательностей можно определить, например, с помощью программы BLAST, алгоритма, предложенного Karlin и Altschul (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, pp5873 (1993)) или FASTA (Methods in Enzymol., 183, pp63 (1990)). Доступна программа, называемая  
 20 BLASTN или BLASTX (J. Mol. Biol., 215, pp403 (1990)).

Антитело настоящего изобретения может быть антителом IgA-, IgD-, IgE, IgG- или IgM-типа, предпочтительно IgG- или IgM-типа, включая, но ими не ограничиваясь, IgG1-, IgG2-, IgG3-, IgG4-, IgM1- и IgM2-тип.

Антитела настоящего изобретения могут быть предпочтительно сконструированы  
 25 путем гомологичного моделирования с применением любого пригодного метода, известного специалисту в данной области техники. Более того, гуманизированные формы данных антител, такие как 11B7 или 11D5, могут быть получены согласно методам, известным в данной области техники, таким как химеризация или прививка CDR. Альтернативные методы для получения гуманизированных антител хорошо  
 30 известны в данной области техники и описаны, например, в EP-A1 0239400 и WO 9007861. Обычно гуманизированное антитело содержит один или более аминокислотных остатков, которые введены в него из источника, который не является человеком. Эти не относящиеся к человеку аминокислотные остатки часто обозначаются как «импортные» остатки, которые обычно берутся из «импортного» вариабельного домена. Обычно гуманизированное антитело содержит один или более аминокислотных  
 35 остатков, которые введены в него из источника, который не является человеком. Эти не относящиеся к человеку аминокислотные остатки часто обозначаются как «импортные» остатки, которые обычно берутся из «импортного» вариабельного домена. Гуманизирование может быть проведена, например, по методу Winter и соавторов (Jones et al., Nature, 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature, 332:323-327 (1988); Verhoeven et al., Science, 239:1534-1536 (1988)), путем замены CDRs или последовательностей CDR, происходящих не из человека, на соответствующие последовательности антитела человека. В соответствии с этим, такие  
 40 «гуманизированные» антитела представляют собой химерные антитела (U.S. Pat. No. 4,816,567), где значительно меньший участок, чем интактный вариабельный домен человека, заменен на соответствующую последовательность из видов, не являющихся человеком. На практике гуманизированные антитела обычно представляют собой антитела человека, в которых некоторые остатки в CDR и, возможно, некоторые остатки  
 45 FR заменены на остатки из аналогичных участков в антителах, происходящих не из человека.

Антитело человека может быть получено из библиотеки фагового дисплея антител человека (Wormstone, I.M. et.al, Investigative Ophthalmology & Visual Science. (2002) 43 (7),

p.2301-2308; Carmen, S. et.al., Briefings in Functional Genomics and Proteomics (2002), 1 (2), p.189-203; Siriwardena, D. et.al., Ophthalmology (2002) 109 (3), p.427-431), что хорошо известно специалисту в данной области техники.

Например, может использоваться метод фагового дисплея, который включает  
5 получение вариабельного участка антитела человека, экспрессирующегося на поверхности фага в виде одноцепочечного антитела, scFv, и отбор фага, который связывается с антигеном (Nature Biotechnology (2005), 23, (9), p.1105-1116).

С помощью анализа гена выбранного фага может быть определена последовательность ДНК, кодирующая вариабельный участок антитела человека,  
10 связывающегося с антигеном.

После того, как определена последовательность ДНК scFv, антитело человека может быть получено путем конструирования экспрессионного вектора, включающего указанную последовательность, и введения указанного вектора в подходящую клетку-хозяина для экспрессии антитела (WO 92001047, WO 92020791, WO 93006213, WO  
15 93011236, WO 93019172, WO 95001438, WO 95015388 и Annu.Rev.Immunol (1994) 12, p.433-455 и Nature Biotechnology (2005) 23 (9), p.1105-1116).

Любое антитело человека, независимо от способа его получения, может являться воплощением настоящего изобретения, если указанное антитело обладает связывающей активностью по отношению к антигену - AXL человека, и содержит все шесть следующих  
20 CDRs: CDRH1 (SNYWG; SEQ ID NO:130), CDRH2 (HITNSGNTTYNPSLKS; SEQ ID NO:131) и CDRH3 (GAFDY; SEQ ID NO:132) в своей тяжелой цепи и CDRL4 (RASQDIGNYLS; SEQ ID NO:127), CDRL5 (GAIKLAV; SEQ ID NO:128) и CDRL6 (LQYIQFPLT; SEQ ID NO:129) в своей легкой цепи соответственно, альтернативно этому, если указанное антитело человека обладает связывающей активностью по отношению к антигену - AXL человека,  
25 и содержит все шесть следующих CRDs: CDRH1 (SNYWG; SEQ ID NO:124), CDRH2 (YITYSGSTSYNPSLKS; SEQ ID NO:125) и CDRH3 (TTFYY; SEQ ID NO:126) в своей тяжелой цепи и CDRL4 (RASQDIGNYLR; SEQ ID NO:121), CDRL5 (GATNLAA; SEQ ID NO:122) и CDRL6 (LQSKESPWT; SEQ ID NO:123) в своей легкой цепи соответственно.

Для терапевтических целей антитело может быть конъюгировано с терапевтической  
30 эффекторной группой, например, с радиоактивной группой или цитотоксической группой.

Для диагностических целей антитело может быть меченым. Пригодные метки включают радиоактивные метки, флуоресцентные метки или ферментативные метки.

Как говорилось выше, антитело настоящего изобретения может существовать во  
35 множестве форм помимо полных антител; включая, например, Fv, Fab, Fab' и F(ab')<sub>2</sub>, диабоды, минибоды, двухвалентное или поливалентное антитело, включающее фрагмент более чем одного антитела, а также в виде одиночных цепей (scFV); смотри, например, WO 8809344.

Антитело настоящего изобретения может представлять собой би-специфичное или  
40 мульти-специфичное антитело, которое является специфичным по отношению более чем к одному антигену или эпитопу.

Одноцепочечный вариабельный фрагмент scFv может быть получен путем слияния вариабельного участка тяжелой цепи иммуноглобулина с вариабельным участком легкой цепи иммуноглобулина через полипептидный линкер (Pluckthun, The Pharmacology  
45 of Monoclonal Antibodies, 113, edited by Rosenberg and Moore, Springer Verlag, New York, p.269-315 (1994) и Nature Biotechnology (2005), 23, p.1126-1136). Биспецифичный фрагмент BiscFv может быть получен путем слияния двух разных scFV через полипептидный линкер.

Методы для получения scFv хорошо известны специалисту в данной области техники (US 4,946,778, US 5,260,203, US 5,091,513, US 5,455,030 и т.д.). Предпочтительно линкер между двумя переменными участками не должен образовывать конъюгат (Huston, J.S. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1988) 85, p.5879-5883). Переменный участок scFv тяжелой цепи иммуноглобулина и переменный участок scFv легкой цепи иммуноглобулина могут происходить из идентичного антитела или из двух антител, одно из которых отличается от другого. Полипептидный линкер может представлять собой одноцепочечный пептид, состоящий из, например, от 12 до 19 аминокислотных остатков.

ДНК, кодирующая scFv, может быть получена с помощью ПЦР, которая включает амплификацию фрагмента ДНК с использованием ДНК, кодирующей полноразмерный или часть переменного участка тяжелой цепи иммуноглобулина или переменного участка легкой цепи, и двух олигонуклеотидов, соответствующих каждому из двух концов, в качестве матрицы и в качестве пары праймеров, соответственно, и последующую амплификацию с использованием пары праймеров, которые сконструированы таким образом, что переменный участок тяжелой цепи и переменный участок легкой цепи являются присоединенными к одному концу и к другому концу полипептидного линкера соответственно.

Функциональный фрагмент антитела, включающий scFv, может быть получен путем введения ДНК, кодирующей указанный scFv, в клетку-хозяина и культивирования указанной клетки, как описано в другом месте в настоящем изобретении.

Одно из воплощений настоящего изобретения представляет собой мультимерное антитело, которое имеет более высокое сродство при связывании с антигеном по сравнению с мономерным антителом. Единицы указанного мультимерного антитела могут быть одинаковыми или отличаться друг от друга, когда одна единица связывается с одним эпитопом антигена и другая единица связывается с другим эпитопом того же самого антигена. Для получения мультимерного антитела может применяться связывание домена CH3 IgG и двух scFv, связывание со стрептавидином и введение мотива спираль-поворот-спираль.

Если это желательно, антитела настоящего изобретения могут быть мутированы в переменных доменах тяжелых и/или легких цепей для изменения связывающих свойств антитела. Например, может быть сделана мутация в одном или более участках CDR для увеличения или уменьшения Kd антитела и AXL, или для изменения связывающей специфичности антитела. Методы сайт-направленного мутагенеза хорошо известны в данной области техники. Смотри, например, Sambrook et al. и Ausubel et al., supra. Кроме того, в переменном участке антитела против AXL могут быть сделаны мутации по аминокислотному остатку, который, как известно, изменен по сравнению с зародышевой линией.

В другом аспекте, помимо мутаций, связанных с гуманизированием, могут быть введены дополнительные мутации в один или более каркасных участков. Мутация может быть сделана в каркасном участке или в константном домене для увеличения времени полу-жизни антитела против AXL. Смотри, например, WO 0009560. Мутация в каркасном участке или в константном домене может быть также сделана для изменения иммуногенности антитела, для создания участка для ковалентного или нековалентного связывания с другой молекулой, или для изменения таких свойств, как связывание комплемента. Мутации могут быть сделаны в каждом из каркасных участков, константном домене и переменных доменах единственного мутированного антитела. Альтернативно этому, мутации могут быть сделаны только в одном из каркасных



участков, переменных участков или в константном домене единственного мутированного антитела.

Одно из воплощений настоящего изобретения представляет собой поликлональное антитело, включающее более чем одно антитело настоящего изобретения.

5 Одно из воплощений настоящего изобретения представляет собой химическую модификацию антитела настоящего изобретения или его функционального фрагмента. Для создания модифицированного антитела или модифицированного функционального фрагмента могут использоваться молекулы, такие как полимер (полиэтиленгликоль и тому подобное).

10 В дополнительном воплощении гуманизированное антитело согласно настоящему изобретению может содержать константный домен с эффекторными функциями, вследствие чего клетки, экспрессирующие AXL, которые будут связывать антитело, фрагмент антитела или его производное на клеточной поверхности, могут быть атакованы иммунной системой. Например, антитело может обладать способностью  
15 связывать комплемент и участвовать в комплемент-зависимой цитотоксичности (CDC). Более того, антитело может обладать способностью связываться с Fc рецепторами на эффекторных клетках, таких как моноциты и клетки-натуральные киллеры (NK), и участвовать в антитело-зависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC).

В еще одном дополнительном аспекте описываемые здесь антитела являются  
20 применимыми для терапевтического лечения, предпочтительно для лечения гиперпролиферативных заболеваний, сердечнососудистых заболеваний, в частности, атеросклероза и тромбоза, связанных с диабетом заболеваний, в частности, гломерулярной гипертрофии или диабетической нефропатии, и особенно заболеваний, связанных с, сопровождающихся или вызываемых экспрессией, сверхэкспрессией или  
25 гиперактивностью AXL. Гиперпролиферативные заболевания предпочтительно выбираются из заболеваний, связанных с, сопровождающихся или вызываемых экспрессией, сверхэкспрессией или гиперактивностью AXL, таких как рак, например, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак легких, рак почек, фолликулярная лимфома, миелоидная лейкемия, рак/меланома кожи, глиобластома, рак яичников, рак  
30 простаты, рак поджелудочной железы, рак пищевода Барретта и рак пищевода, рак желудка, рак мочевого пузыря, рак шейки матки, рак печени, рак щитовидной железы, рак головы и шеи, или гиперпластические и неопластические заболевания или другие Гиперпролиферативные заболевания, связанные с экспрессией или сверхэкспрессией AXL.

35 Применимость антител настоящего изобретения для лечения любых связанных с AXL заболеваний, таких как Гиперпролиферативные заболевания, может быть продемонстрирована, показана или предположена с помощью экспериментов *in vitro*, *in vivo* или *ex vivo*, включая таковые по лиганд-индуцированному автофосфорилированию AXL, влиянию на опосредованную AXL передачу сигнала на  
40 лежащие ниже компоненты сигнального каскада, такие как лиганд-индуцируемое фосфорилирование Akt и p42/44 MAP-киназой, миграцию или пролиферацию раковых клеток, лиганд-индуцированную миграцию или пролиферацию клеток, экспрессирующих AXL, ангиогенез тканей или клеток и рост или метастазирование рака человека или раковых клеток человека, трансплантированных в животных, не являющихся человеком,  
45 таких как мыши с ксенотрансплантатами, а также любыми другими преклиническими/неклиническими экспериментами и клиническими испытаниями.

В другом аспекте антитела настоящего изобретения могут применяться для совместного введения с антинеопластическим агентом для лечения одного из

упомянутых выше заболеваний.

Совместное введение в используемом здесь значении включает введение антитела настоящего изобретения с антинеопластическим агентом, предпочтительно антинеопластическим агентом, индуцирующим апоптоз. Термин «совместное введение»  
 5 дополнительно включает введение антитела настоящего изобретения и антинеопластического агента, предпочтительно, антинеопластического агента, индуцирующего апоптоз, в форме единой композиции или в форме двух или более разных композиций. Совместное введение включает введение антитела настоящего изобретения с антинеопластическим агентом, предпочтительно антинеопластическим агентом, индуцирующим апоптоз, одновременно (то есть в одно и то же время) или  
 10 последовательно (то есть с интервалами).

Настоящее изобретение дополнительно касается молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело, фрагмент антитела или его производное согласно настоящему изобретению. Молекула нуклеиновой кислоты настоящего изобретения, кодирующая  
 15 описанное выше антитело, фрагмент антитела или его производное, может представлять собой, например, ДНК, кДНК, РНК или синтетически полученную ДНК или РНК, или полученную рекомбинантную химерную молекулу нуклеиновой кислоты, включающую любую из этих молекул нуклеиновой кислоты либо саму по себе, либо в комбинации. Данная молекула нуклеиновой кислоты может также представлять собой геномную  
 20 ДНК, соответствующую целому гену или его значительной части, или его фрагментам и производным. Нуклеотидная последовательность может соответствовать встречающейся в природе нуклеотидной последовательности или может содержать одну или множество нуклеотидных замен, делеций или добавлений (вставок). В конкретном предпочтительном воплощении настоящего изобретения молекула  
 25 нуклеиновой кислоты представляет собой молекулу кДНК.

Согласно дополнительному аспекту настоящее изобретение касается изолированной молекулы нуклеиновой кислоты, выбираемой из группы, состоящей из:

- (а) последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей моноклональное антитело согласно настоящему изобретению, фрагмент антитела или его производное,
- 30 (b) последовательности нуклеиновой кислоты, как показано в одной из последовательностей с SEQ ID Nos, выбираемой из группы, состоящей из последовательностей от SEQ ID NO:5 до SEQ ID NO:17, от SEQ ID NO:31 до SEQ ID NO:39, от SEQ ID NO:49 до SEQ ID NO:54 и от SEQ ID NO:60 до SEQ ID NO:66,
- (с) последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, выбираемый  
 35 из группы, состоящей из последовательностей от SEQ ID NO:18 до SEQ ID NO:30, от SEQ ID NO:40 до SEQ ID NO:48, от SEQ ID NO:55 до SEQ ID NO:60, от SEQ ID NO:67 до SEQ ID NO:72, от SEQ ID NO:73 до SEQ ID NO:120 и от SEQ ID NO:121 до 132,
- (d) нуклеиновой кислоты, комплементарной любой из последовательностей, указанных в пунктах от (а) до (с), или
- 40 (е) последовательности нуклеиновой кислоты, способной гибридизоваться с последовательностями, указанными в пунктах (а), (b), (с) или (d), в жестких условиях и кодирующей полипептид, где антитело или его функциональный фрагмент, включающий указанный полипептид, связывается с внеклеточным доменом AXL,
- (f) последовательности нуклеиновой кислоты, как показано в одной из  
 45 последовательностей с SEQ ID Nos, выбираемой из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO:144 и SEQ ID NO:145, и SEQ ID NO:148 и SEQ ID NO:149,
- (g) последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, выбираемый из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO:146 и SEQ ID NO:147, и SEQ

ID NO:150 и SEQ ID NO:151,

(h) нуклеиновой кислоты, комплементарной любой из последовательностей, указанных в пунктах (f) или (g), или

- 5 (i) последовательности нуклеиновой кислоты, способной гибридизоваться с последовательностями, указанными в пунктах (f), (g) или (h) в жестких условиях и кодирующей полипептид, где антитело или его функциональный фрагмент, включающий указанный полипептид, связывается с внеклеточным доменом AXL.

10 Термин «гибридизация в жестких условиях» означает, что два фрагмента нуклеиновой кислоты гибридизуются друг с другом в стандартизованных условиях гибридизации, как описано, например, в Sambrook et al., "Expression of cloned genes in E.coli" in Molecular Cloning: A laboratory manual (1989), Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA. Такие условия представляют собой, например, гибридизацию в  $6,0 \times \text{SSC}$  при примерно  $45^\circ\text{C}$  с последующей стадией отмывки в  $2,0 \times \text{SSC}$  при  $50^\circ\text{C}$ , предпочтительно  $2,0 \times \text{SSC}$  при  $65^\circ\text{C}$ , или  $0,2 \times \text{SSC}$  при  $50^\circ\text{C}$ , предпочтительно  $0,2 \times \text{SSC}$  при  $65^\circ\text{C}$ .

15 Настоящее изобретение также касается вектора, включающего молекулу нуклеиновой кислоты настоящего изобретения. Указанный вектор может представлять собой, например, фаг, плазмиду, вирусный или ретровирусный вектор. Ретровирусные векторы могут быть репликационно-компетентными или репликационно-дефективными. В последнем случае размножение вируса будет происходить, как правило, только в  
20 комплементирующих клетках-хозяевах.

Молекулы нуклеиновой кислоты настоящего изобретения могут быть включены в вектор, содержащий селективные маркеры для размножения в хозяине. Как правило, плазмидный вектор вводится в преципитат, такой как преципитат фосфата кальция или преципитат хлорида рубидия, или в состав комплекса с заряженным липидом или в  
25 кластеры на основе углерода, такие как фуллерены. Если вектор должен представлять собой вирус, он может быть «упакован» in vitro с использованием подходящей для упаковывания клеточной линии до его внесения в клетки-хозяева.

Предпочтительно вектор настоящего изобретения представляет собой экспрессионный вектор, в котором молекула нуклеиновой кислоты функционально  
30 связана с одной или более контрольными последовательностями, что обеспечивает транскрипцию и, не обязательно, экспрессию в прокариотических и/или эукариотических клетках-хозяевах. Экспрессия указанной молекулы нуклеиновой кислоты включает транскрипцию молекулы нуклеиновой кислоты предпочтительно в пригодную для трансляции мРНК. Регуляторные элементы, обеспечивающие экспрессию в  
35 эукариотических клетках, предпочтительно клетках млекопитающих, хорошо известны специалистам в данной области техники. Они обычно включают регуляторные последовательности, обеспечивающие инициацию транскрипции и, не обязательно, поли-А сигналы, обеспечивающие терминацию транскрипции и стабилизацию транскрипта. Дополнительные регуляторные элементы могут включать  
40 транскрипционные и трансляционные энхансеры. Возможные регуляторные элементы, обеспечивающие экспрессию в прокариотических клетках-хозяевах, включают, например, lac, trp или tac промотор в E.coli, а примерами регуляторных элементов, обеспечивающих экспрессию в эукариотических клетках-хозяевах, являются AOX1 или GAL1 промотор в дрожжах или CMV-, SV40-, RSV-промотор (вирус саркомы Рауса),  
45 CMV-энхансер, SV40- энхансер или глобиновый интрон в клетках млекопитающих и клетках других животных. Помимо элементов, которые отвечают за инициацию транскрипции, такие регуляторные элементы могут также включать сигналы терминации транскрипции, такие как SV40-поли-А сайт или tk-поли-А сайт, расположенные после

данного полинуклеотида. В этом контексте пригодные экспрессионные векторы являются известными в данной области техники, это, например, Okayama-Berg cDNA экспрессионный вектор pcDV1 (Pharmacia), pCDM8, pRc/CMV, pcDNA1, pcDNA3 (Invitrogen) или pSPORT1 (GIBCO BRL). Предпочтительно указанный вектор представляет собой экспрессионный вектор и/или вектор для переноса гена или направляющий (адресующий) вектор. Экспрессионные векторы, происходящие из вирусов, таких как ретровирусы, вирус осповакцины, аденоассоциированный вирус, вирус герпеса, вирус папилломы крупного рогатого скота, могут применяться для доставки полинуклеотидов или вектора настоящего изобретения в целевую клеточную популяцию. Для конструирования рекомбинантных вирусных векторов могут применяться методы, которые хорошо известны специалистам в данной области техники, смотри, например, методы, описанные в Sambrook, Molecular Cloning A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (2001, Third Edition) N.Y. и Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1994). Альтернативно этому молекулы нуклеиновой кислоты настоящего изобретения могут быть встроены в липосомы для доставки в целевые клетки.

Настоящее изобретение дополнительно касается хозяина, включающего вектор настоящего изобретения. Указанный хозяин может представлять собой прокариотическую или эукариотическую клетку или трансгенное животное, не являющееся человеком. Полинуклеотид или вектор настоящего изобретения, который присутствует в хозяине, может быть либо интегрирован в геном хозяина, либо может поддерживаться внехромосомно. В этом отношении необходимо также понимать, что молекула нуклеиновой кислоты настоящего изобретения может применяться для «адресации в ген» и/или «замещения гена» для восстановления мутантного гена или создания мутантного гена путем гомологичной рекомбинации, смотри, например, Mouellic, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87 (1990), 4712-4716; Joyner, Gene Targeting, A Practical Approach, Oxford University Press.

Хозяин может представлять собой любую прокариотическую или эукариотическую клетку, такую как клетка бактерии, насекомого, гриба, растения, животного, млекопитающего или, предпочтительно, клетку человека. Предпочтительными клетками грибов являются, например, таковые рода *Saccharomyces*, в частности, таковые вида *S. cerevisiae*. Термин «прокариоты» включает все бактерии, которые могут быть трансформированы или трансфицированы полинуклеотидом для экспрессии варианта полипептида настоящего изобретения. Прокариотические хозяева могут включать как грамотрицательные, так и грамположительные бактерии, такие как, например, *E.coli*, *S. typhimurium*, *Serratia marcescens* и *Bacillus subtilis*. Полинуклеотид, кодирующий мутантную форму вариантов полипептидов настоящего изобретения, может применяться для трансформации или трансфекции хозяина с использованием любого из методов, обычно известных специалистам средней квалификации в данной области техники. Методы для получения слитых функционально связанных генов и их экспрессии в бактериях или клетках животных хорошо известны в данной области техники (Sambrook, Molecular Cloning A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (2001, Third Edition)). Генетические конструкции и методы, которые здесь описаны, могут применяться для экспрессии вариантов антител, фрагментов антител или их производных согласно настоящему изобретению, например, в прокариотических хозяевах. Как правило, экспрессионные векторы, содержащие промоторные последовательности, которые обеспечивают эффективную транскрипцию встроенной молекулы нуклеиновой кислоты, применяются в соответствии с используемым хозяином. Экспрессионный вектор обычно

содержит область начала репликации, промотор и терминатор, а также специфические гены, которые обеспечивают проведение фенотипической селекции трансформированных клеток. Трансформированные прокариотические хозяева могут выращиваться в ферментерах и культивироваться согласно способам, известным в данной области техники, для достижения оптимального клеточного роста. Антитела, фрагменты антител и их производные настоящего изобретения могут после этого выделяться из культуральной среды, клеточных лизатов или фракций клеточных мембран. Выделение и очистка экспрессированных микробиологически или иным способом антител, фрагментов антител или их производных согласно настоящему изобретению может проводиться любым стандартным способом, таким как, например, препаративное хроматографическое разделение и иммунологическое разделение, как, например, таковое, включающее применение моноклональных или поликлональных антител.

В предпочтительном воплощении настоящего изобретения хозяин представляет собой клетку бактерии, гриба, растения, амфибии или животного. Предпочтительные животные клетки включают, но ими не ограничиваются, клетки яичников Китайского хомячка (CHO) (CHO cell, ATCC CCL-61) или их штамм, дефицитный по дигидрофолатредуктазе (Uriaub, G. and Chasin, L.A. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. (1980) 77, p.4126-4220), клетки почек новорожденного хомячка (BHK), клетки почек мартышки (COS) (Gluzman, Y. Cell (1981) 23, p.175-182 и ATCC CRL-1650), 3T3 клетки или NIH3T3 клетки, происходящие из фибробластов мыши (ATCC No. CRL-1658), NSO клетки и большое число других клеточных линий, включая клетки человека, например, Per.C6. В другом предпочтительном воплощении указанная клетка животного представляет собой клетку насекомого. Предпочтительные клетки насекомых включают, но ими не ограничиваются, клетки клеточных линий SF9.

В более предпочтительном воплощении настоящего изобретения указанный хозяин представляет собой клетку человека или клеточную линию человека. Указанные клетки человека включают, но ими не ограничиваются, эмбриональные клетки почек человека (HEK293, 293T, 293 freestyle). Кроме того, указанные клеточные линии человека включают, но ими не ограничиваются, клетки HeLa, клетки гепатоклеточной карциномы человека (например, Hep G2), клетки A549.

Настоящее изобретение также предоставляет трансгенных животных, не являющихся человеком, включающих одну или более молекул нуклеиновой кислоты настоящего изобретения, которые могут применяться для продукции антител настоящего изобретения. Антитела могут быть продуцированы и извлечены из ткани или жидкостей тела, таких как молоко, кровь или моча, коз, крупного рогатого скота, лошадей, свиней, крыс, мышей, кроликов, хомячков или других млекопитающих. Смотри, например, U.S. Patent Nos. 5,827,690; 5,756,687; 5,750,172; и 5,741,957. Как описано выше, трансгенные животные, не являющиеся человеком, которые содержат локус иммуноглобулина человека, могут быть получены путем иммунизации AXL или его частью.

Настоящее изобретение дополнительно касается способа для получения антитела, включающего культивирование хозяина согласно настоящему изобретению в условиях, которые обеспечивают синтез указанного антитела и выделение указанного антитела из указанной культуры.

Трансформированные хозяева могут выращиваться в ферментерах и культивироваться согласно способам, известным в данной области техники, для достижения оптимального клеточного роста. После их экспрессии целые антитела, их димеры, индивидуальные легкие и тяжелые цепи или другие формы иммуноглобулинов настоящего изобретения могут очищаться согласно стандартным методам, известным

в данной области техники, включая осаждение сульфатом аммония, аффинные колонки, колоночную хроматографию, гель-электрофорез и тому подобное, смотри, Scores, "Protein Purification", Springer-Verlag, N.Y. (1982). Антитело или соответствующая цепь (цепи) иммуноглобулина настоящего изобретения могут после этого быть выделены

из культуральной среды, клеточных лизатов или фракций клеточных мембран. Выделение и очистка, например, микробиологически экспрессированных антител или цепей иммуноглобулина настоящего изобретения может проводиться любым стандартным способом, таким как, например, препаративное хроматографическое разделение и иммунологическое разделение, как, например, таковое, включающее

применение моноклинальных или поликлональных антител, направленных, например, против константного участка антитела настоящего изобретения. Специалисту в данной области техники должно быть понятно, что антитела настоящего изобретения могут дополнительно быть связаны с другими остатками, например, для целей адресной доставки лекарства и для визуализации. Такое связывание

может быть проведено химическим путем после экспрессии антитела или антигена по участку присоединения, или соединенный продукт может быть введен в антитело или антиген настоящего изобретения на уровне ДНК. Данные ДНК затем экспрессируются в подходящей системе хозяина и экспрессированные белки выделяются и, если это необходимо, ренатурируются. В предпочтительном воплощении настоящего изобретения антитело связано с эффектором, таким как радиоизотоп или токсический химиотерапевтический агент. Предпочтительно эти конъюгаты антител являются пригодными для целевой доставки в клетки, например, в раковые клетки, экспрессирующие AXL, для их уничтожения. Связывание антител/фрагментов антител настоящего изобретения с радиоизотопами,

например, обеспечивает преимущества в лечении опухолей. В отличие от химиотерапии и других форм лечения рака, радиоиммунотерапия или введение комбинации радиоизотоп-антитело прямо направлено на раковые клетки, что приводит к минимальным повреждениям окружающей нормальной, здоровой ткани. Предпочтительные радиоизотопы включают, например,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,

$^{111}\text{In}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ . Кроме того, антитела настоящего изобретения могут применяться для лечения рака, когда они конъюгированы с токсическими химиотерапевтическими агентами, такими как гелданамицин (Mandler et al., J. Natl. Cancer Inst., 92(19), 1549-51 (2000) и майтансин, например, майтансиноидный агент DM1 (Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93:8618-8623 (1996), и ауристатин-Е или монометилауристатин-Е (Doronina et al., Nat. Biotechnol. 21:778-784 (2003) или калихеамицит. Для этого способа применяются разные линкеры, которые обеспечивают высвобождение лекарства в кислых или восстанавливающих условиях или при экспонировании со специфическими протеазами. Антитела настоящего изобретения могут быть конъюгированы, как это описано в данной области техники.

Одно из воплощений настоящего изобретения представляет собой химическую модификацию антитела или его функционального фрагмента настоящего изобретения. Для получения модифицированного антитела или модифицированного функционального фрагмента могут использоваться молекулы, такие как полимеры (полиэтиленгликоль или тому подобное).

Настоящее изобретение дополнительно касается фармацевтической композиции, включающей антитело, молекулу нуклеиновой кислоты, вектор, хозяина согласно настоящему изобретению или антитело, полученное по способу настоящего изобретения.

Термин «композиция» в используемом здесь значении включает, по меньшей мере,

одно соединение настоящего изобретения. Предпочтительно такая композиция представляет собой фармацевтическую или диагностическую композицию.

Предпочтительно, чтобы указанная фармацевтическая композиция включала фармацевтически приемлемый носитель и/или растворитель. Раскрываемая здесь фармацевтическая композиция может быть частично пригодной для лечения заболеваний, связанных с, сопровождающихся или вызываемых экспрессией, сверхэкспрессией или гиперактивностью AXL, например, гиперпролиферативных заболеваний, сердечнососудистых заболеваний, в частности, атеросклероза и тромбоза, связанных с диабетом заболеваний, в частности, гломерулярной гипертрофии или диабетической нефропатии. Указанные заболевания включают, но ими не ограничиваются, рак, например, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак легких, рак почек, фолликулярную лимфому, миелоидную лейкемию, рак/меланому кожи, глиобластому, рак яичников, рак простаты, рак поджелудочной железы, рак пищевода Барретта и рак пищевода, рак желудка, рак мочевого пузыря, рак шейки матки, рак печени, рак щитовидной железы, рак головы и шеи или другие гиперпластические или неопластические заболевания или другие заболевания, связанные с экспрессией или сверхэкспрессией AXL.

Термин «гиперактивность» в используемом здесь значении относится к неконтролируемой активации AXL-сигнального пути, которая может быть вызвана отсутствием и/или дисфункцией отрицательной регуляции. Пример отрицательной регуляции включает дефосфорилирование, деградацию и/или эндоцитоз белков. Более того, неконтролируемая активация AXL-сигнального пути может быть следствием генетических изменений, как соматических, так и генеративных клеток, которые приводят к изменениям аминокислотной последовательности AXL.

Примеры пригодных фармацевтических носителей, наполнителей и/или растворителей хорошо известны в данной области техники и включают растворы фосфатного буфера, воду, эмульсии, такие как эмульсии масло/вода, различные типы увлажняющих агентов, стерильные растворы и т.д. Композиции, включающие такие носители, могут быть приготовлены хорошо известными стандартными методами. Эти фармацевтические композиции могут вводиться субъекту в подходящей дозе. Введение подходящих композиций может проводиться различными путями, например, внутривенно, внутривенно, подкожно, внутримышечно, топически, внутрикожно, внутриназально или внутрибронхиально. Композиции настоящего изобретения могут также вводиться непосредственно в целевой участок, например, путем биолиственной доставки к внешнему или внутреннему целевому участку, например, к мозгу. Режим дозировки будет определяться лечащим врачом и клиническими факторами. Как хорошо известно в медицинской области техники, дозировки для любого конкретного пациента зависят от множества факторов, включая размер пациента, площадь поверхности тела, возраст, конкретное соединение, которое вводится, пол, время и способ введения, общее состояние здоровья и другие лекарства, которые вводятся одновременно.

Фармацевтически активное вещество белковой природы может присутствовать в количествах между 1 мкг и 100 мг/кг веса тела на одну дозировку; однако могут рассматриваться дозы ниже или выше этого примерного диапазона, особенно с учетом вышеуказанных факторов. Если введение представляет собой непрерывное вливание, диапазон также должен составлять от 1 пг до 100 мг на килограмм веса тела в минуту.

Прогресс лечения может оцениваться путем периодических обследований. Композиции настоящего изобретения могут вводиться локально или системно. Препараты для парентерального введения включают стерильные водные или неводные растворы,

суспензии и эмульсии. Примерами неводных растворителей являются пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло, и пригодные для инъекций органические эфиры, такие как этилолеат. Водные носители включают воду, спирто/водные растворы, эмульсии или суспензии, включая физиологический раствор и буферные среды. Парентеральные носители включают раствор хлорида натрия, раствор Рингера с декстрозой, декстрозу и хлорид натрия, раствор Рингера с лактатом или нелетучие масла. Внутривенные носители включают жидкие и питательные добавки, добавки электролитов (такие как добавки на основе раствора Рингера с декстрозой) и тому подобное. Могут также присутствовать консерванты и другие добавки, такие как, например, антимикробные агенты, антиоксиданты, хелатирующие агенты и инертные газы и тому подобное. Кроме того, фармацевтическая композиция настоящего изобретения может включать дополнительные агенты в зависимости от предполагаемого применения фармацевтической композиции.

Особенно предпочтительно, чтобы фармацевтическая композиция включала, по меньшей мере, один дополнительный активный агент, например, дополнительный антинеопластический агент, низкомолекулярный ингибитор, противоопухолевый агент, химиотерапевтический агент или комбинацию этих агентов.

Настоящее изобретение также касается фармацевтической композиции, включающей гуманизированное антитело против AXL настоящего изобретения в комбинации, по меньшей мере, с одним дополнительным антинеопластическим агентом. Указанная комбинация является эффективной, например, для ингибирования ненормального клеточного роста.

В данной области техники в настоящее время известно множество антинеопластических агентов. В целом данный термин включает все агенты, которые обладают способностью предотвращать, облегчать и/или лечить гиперпролиферативные заболевания. В одном воплощении антинеопластический агент выбирается из группы терапевтических белков, включая, но ими не ограничиваясь, антитела или иммуномодуляторные белки. В другом воплощении антинеопластический агент выбирается из группы низкомолекулярных ингибиторов или химиотерапевтических агентов, состоящей из ингибиторов митоза, ингибиторов киназ, алкилирующих агентов, анти-метаболитов, интеркалирующих антибиотиков, ингибиторов факторов роста, ингибиторов клеточного цикла, ферментов, ингибиторов топоизомеразы, ингибиторов деацетилазы гистонов, снижающих жизнеспособность агентов, модификаторов биологических ответов, анти-гормонов, например, анти-андрогенов, и агентов, подавляющих ангиогенез.

Конкретные примеры антинеопластических агентов, которые могут применяться в комбинации с предоставляемыми в настоящем изобретении антителами, включают, например, gefitinib, lapatinib, sunitinib, pazopanib, bevacizumab, cetuximab, imatinib, trastuzumab, alemtuzumab, rituximab, erlotinib, bortezomib и тому подобное. Другие конкретные антинеопластические агенты для применения в композициях, которые здесь раскрываются и заявляются, включают, например, химиотерапевтические агенты, такие как капецитабин, даунорубин, дауномицин, дактиномицин, доксорубин, эпирубин, идарубин, эзрубин, блеомицин, мафосфамид, ифосфамид, цитозинарабинозид, бис-хлорэтилнитрозомочевина, бусульфид, митомицин C, актиномицин D, митрамицин, преднизон, гидроксипрогестерон, тестостерон, тамоксифен, дакарбазин, прокарбазин, гексаметилмеламин, пентаметилмеламин, митоксантрон, амсакрин, хлорамбуцил, метилциклогексилнитрозомочевина, азотистый иприт (хлорметин), мелфалан,



циклофосфамид, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, цитарабин (CA), 5-азацитидин, гидроксимочевина, дезоксиоформицин, 4-гидроксипероксициклофосфорамид, 5-фторурацил (FU), 5-фтордезоксиуридин (5-FUdR), метотрексат (MTX), колхицин, таксол, винкристин, винбластин, этопозид, триметрексат, тенипозид, цисплатин и диэтилстильбестрол (DES). Смотри, в целом, The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 15th Ed. 1987, pp.1206-1228, Berkow et al., eds., Rahway, N.J. Особенно предпочтительными являются такие антинеопластические агенты, которые индуцируют апоптоз.

Настоящее изобретение также касается поликлонального антитела, включающего более чем одно антитело настоящего изобретения.

При применении с описанными антителами против AXL такие антинеопластические агенты могут применяться индивидуально (например, 5-FU и антитело), последовательно (например, 5-FU и антитело в течение определенного периода времени, затем MTX и антитело), или в комбинации с одним или более другими такими антинеопластическими агентами (например, 5-FU, MTX и антитело, или 5-FU, радиотерапия и антитело).

Термин «антинеопластический (противоопухолевый) агент» может также включать терапевтические процедуры, например, облучение или радиотерапию.

Фармацевтическая композиция настоящего изобретения предпочтительно применяется для лечения людей, но может применяться также для ветеринарных целей.

Кроме того, настоящее изобретение касается применения антитела настоящего изобретения, молекулы нуклеиновой кислоты, вектора, хозяина согласно настоящему изобретению или антитела, полученного согласно способу настоящего изобретения, для получения фармацевтической композиции для диагностики, профилактики или лечения гиперпролиферативных заболеваний, сердечнососудистых заболеваний, в частности, атеросклероза и тромбоза, связанных с диабетом заболеваний, в частности, гломерулярной гипертрофии или диабетической нефропатии, и в особенности заболеваний, связанных с, сопровождающихся или вызванных экспрессией, сверхэкспрессией или гиперактивностью AXL.

Как упоминалось выше, гиперпролиферативное заболевание включает любую неоплазию, то есть любой ненормальный и/или неконтролируемый новый рост ткани.

Термин «неконтролируемый новый рост ткани» в используемом здесь значении может быть связан с дисфункцией и/или потерей регуляции роста. Гиперпролиферативное заболевание включает опухолевые заболевания и/или рак, такой как метастазирующие или инвазивные формы рака.

В предпочтительном воплощении применения настоящего изобретения указанное гиперпролиферативное заболевание представляет собой, в частности, рак молочной железы, рак толстого кишечника, рак легких, рак почек, фолликулярную лимфому, миелоидную лейкемию, рак/меланому кожи, глиобластому, рак яичников, рак простаты, рак поджелудочной железы, рак пищевода Барретта и рак пищевода, рак желудка, рак мочевого пузыря, рак шейки матки, рак печени, рак щитовидной железы, рак головы и шеи или другие гиперпластические или неопластические заболевания или другие гиперпролиферативные заболевания, связанные с экспрессией или сверхэкспрессией AXL.

В еще одном другом воплощении настоящее изобретение касается применения гуманизированного антитела против AXL настоящего изобретения для производства лекарства для совместного введения вместе с антинеопластическим агентом для лечения одного из указанных выше заболеваний.

Согласно дополнительному предпочтительному воплощению настоящее изобретение направлено на применение гуманизированного антитела против AXL настоящего

изобретения для производства фармацевтической композиции для лечения устойчивого к лекарствам рака.

Кроме того, настоящее изобретение касается диагностической композиции, включающей антитело настоящего изобретения, молекулу нуклеиновой кислоты, вектор, хозяина согласно настоящему изобретению или антитело, полученное согласно способу настоящего изобретения, и, не обязательно, фармацевтически приемлемый носитель.

Диагностическая композиция настоящего изобретения является пригодной для выявления нежелательной экспрессии, сверхэкспрессии или гиперактивности AXL млекопитающих в разных клетках, тканях или другом пригодном образце, включающего контактирование образца с антителом настоящего изобретения и выявление присутствия AXL в данном образце. В соответствии с этим, диагностическая композиция настоящего изобретения может применяться для выявления признаков или статуса заболевания в случае гиперпролиферативного заболевания.

Кроме того, злокачественные клетки, такие как экспрессирующие AXL раковые клетки, могут обнаруживаться (превращаться в мишень) с помощью антител настоящего изобретения. Таким образом, клетки, которые связали антитело настоящего изобретения, могут быть атакованы компонентами иммунной системы, такими как система комплемента или система опосредованной клетками цитотоксичности, что приводит к снижению количества или уничтожению раковых клеток. Эти соображения в равной мере применимы к лечению метастазов и повторных опухолей.

В другом аспекте настоящего изобретения антитело настоящего изобретения связано с меченой группой. Как уже говорилось выше, такие антитела особенно пригодны для диагностических целей. В используемом здесь значении термин «меченая группа» обозначает маркер, который можно детектировать, например, радиоактивно меченую аминокислоту или биотинилированные группы, которые можно выявить с помощью меченого авидина. В данной области техники известны многочисленные методы для мечения полипептидов и гликопротеинов, таких как антитела, которые могут применяться при воплощении настоящего изобретения. Примеры пригодных групп для мечения включают, но ими не ограничиваются, следующие: радиоизотопы или радионуклиды (например,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ), флуоресцентные группы (например, ФИТЦ, родамин, люминофоры на основе лантанидов), ферментативные группы (например, пероксидаза хрена,  $\beta$ -галактозидаза, люцифераза, щелочная фосфатаза), хемилюминесцентные группы, биотинилированные группы или заранее заданные полипептидные эпитопы, распознаваемые вторичной меткой (например, парные последовательности лейциновых молний, участки связывания вторичных антител, металл-связывающие домены, эпитопные таги (метки)).

В определенных аспектах может быть желательно, чтобы меченые группы были присоединены через спейсеры определенной длины с целью снижения потенциальных стерических затруднений.

В другом воплощении настоящее изобретение касается способа выявления наличия клеток, экспрессирующих AXL, включающего контактирование антитела настоящего изобретения с клетками или тканью, в которых предполагается присутствие AXL на их/ее поверхности. Пригодными методами для выявления экспрессии AXL в образце могут быть Твердофазный Иммуноферментный Анализ (ELISA) или иммуногистохимия (ИНС).

Метод ELISA может быть проведен с использованием планшетов для микротитрования, в которых, например, в лунках планшета для микротитрования адсорбированы антитела против AXL. Лунки промываются и обрабатываются

блокирующим агентом, таким как белок молока или альбумин, для предотвращения неспецифического связывания анализируемого агента. После этого лунки обрабатываются тестируемым образцом. После удаления тестируемого образца или стандарта лунки обрабатываются вторым антителом против AXL, которое является меченым, например, путем конъюгирования с биотином. После удаления избытка вторичных антител метка выявляется, например, с помощью конъюгированной с авидином пероксидазы хрена (HRP) и подходящего хромогенного субстрата. Концентрация антигена AXL в тестируемых образцах определяется путем сравнения со стандартной кривой, построенной с использованием стандартных образцов.

Для ИНС может использоваться залитая в парафин ткань, где из ткани, например, сначала с помощью ксилена удаляется парафин, а затем проводится дегидрирование, например, с помощью этанола, после чего ткань промывается дистиллированной водой. Антигенные эпитопы, оказавшиеся замаскированными при фиксации формалином и заливке в парафин, могут открываться путем демаскирования эпитопов, путем ферментативного расщепления или обработки сапонином. Для демаскирования эпитопов парафиновые срезы могут нагреваться в паровом нагревателе, водяной бане или микроволновой печи в течение 20-40 минут в эпитоп-восстанавливающем растворе, таком как, например, раствор 2 N HCl (pH 1,0). В случае ферментативного расщепления срезы ткани могут инкубироваться при 37°C в течение 10-30 минут в растворах различных ферментов, таких как протеиназа К, трипсин, проназа, пепсин и т.д. После отмывки от эпитоп-восстанавливающего раствора или от избытка ферментов, срезы ткани обрабатываются блокирующим буфером для предотвращения неспецифических взаимодействий. Первичные антитела против AXL добавляются в подходящих концентрациях. Избыток первичных антител удаляется, и срезы инкубируются в блокирующем пероксидазу растворе в течение 10 минут при комнатной температуре. После еще одной стадии промывки срезы ткани инкубируются с вторичными мечеными антителами, например, мечеными группой, которая может выступать в качестве якоря для определенного фермента. Такими примерами являются меченые биотином вторичные антитела, которые распознаются связанной со стрептавидином пероксидазой хрена. Выявление комплекса антитело/фермент достигается инкубацией с подходящим хромогенным субстратом.

В дополнительном воплощении настоящее изобретение касается способа блокирования функции AXL, включающего контактирование антитела настоящего изобретения с клетками или тканью, в которых предполагается присутствие AXL на их/ее поверхности, в условиях, при которых антитело способно блокировать функцию AXL. Контактное взаимодействие может проводиться *in vitro* или *in vivo*.

Настоящее изобретение также касается способа лечения гиперпролиферативного заболевания, сердечнососудистых заболеваний, в частности, атеросклероза и тромбоза, связанных с диабетом заболеваний, в частности, гломерулярной гипертрофии или диабетической нефропатии, включающего введение пациенту, который в этом нуждается, подходящей дозы антитела или фрагмента антитела или его производного настоящего изобретения. Гиперпролиферативное заболевание предпочтительно выбирается из заболеваний, связанных с, сопровождающихся или вызванных экспрессией, сверхэкспрессией или гиперактивностью AXL, таких как рак, например, рак молочной железы, рак толстого кишечника, рак легких, рак почек, фолликулярная лимфома, миелоидная лейкемия, рак/меланома кожи, глиобластома, рак яичников, рак простаты, рак поджелудочной железы, рак пищевода Барретта и рак пищевода, рак желудка, рак мочевого пузыря, рак шейки матки, рак печени, рак щитовидной железы, рак головы

и шеи или другие гиперпластические и неопластические заболевания или другие гиперпролиферативные заболевания, связанные с экспрессией или сверхэкспрессией AXL.

Согласно другому предпочтительному воплощению настоящего изобретения рак, который требуется лечить, представляет собой устойчивый к лекарствам рак, предпочтительно выбираемый из группы раковых заболеваний, приведенных выше.

Настоящее изобретение дополнительно касается способа лечения заболевания, в котором антитело настоящего изобретения вводится млекопитающему и в котором указанное заболевание прямо или косвенно коррелирует с ненормальным уровнем экспрессии или активности AXL.

Наконец, настоящее изобретение касается набора, включающего антитело против AXL, предпочтительно антитело, фрагмент антитела или его производное настоящего изобретения, молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующей указанные компоненты и/или вектор настоящего изобретения.

Все воплощения, описывающие раскрываемые здесь соединения, могут применяться в виде отдельных соединений или в комбинации для приготовления лекарства.

#### Краткое описание Фигур

Фигура 1: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных вариабельных участков легкой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11B7, обозначенных номерами от h#11B7-T1L до h#11B7-T7L.

Фигура 2: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных вариабельных участков легкой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11B7, обозначенных номерами от h#11B7-T8L до h#11B7-T14L.

Фигура 3: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных вариабельных участков легкой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11B7, обозначенных номерами от h#11B7-T15L до h#11B7-T20L.

Фигура 4: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных вариабельных участков тяжелой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11B7, обозначенных номерами от h#NB7-T1H до h#NB7-T6H.

Фигура 5: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных вариабельных участков тяжелой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11B7, обозначенных номерами от h#NB7-T7H до h#NB7-T12H.

Фигура 6: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных вариабельных участков легкой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11D5, обозначенных номерами от h#11D5-T1L до h#11D5-T7L.

Фигура 7: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных вариабельных участков легкой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11D5, обозначенных номерами от h#11D5-T8L to h#11D5-T14L.

Фигура 8: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных вариабельных участков легкой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11D5, обозначенных номерами от h#11D5-T15L до h#11D5-

T21L.

Фигура 9: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных вариабельных участков легкой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11D5, обозначенных номерами от h#11D5-T22L до h#11D5-T28L.

Фигура 10: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных вариабельных участков легкой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11D5, обозначенных номерами от h#11D5-T29L до h#11D5-T35L.

Фигура 11: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных вариабельных участков легкой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11D5, обозначенных номерами h#11D5-T36L и h#11D5-T37L.

Фигура 12: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных вариабельных участков тяжелой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11D5, обозначенных номерами от h#11D5-T1H до h#11D5-T7H.

Фигура 13: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных вариабельных участков тяжелой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11D5, обозначенных номерами от h#HD5-T8H до h#HD5-T13H.

Фигура 14: На этой Фигуре показаны нуклеотидные последовательности праймеров EFF1 и EfsmR, Фрагмента В, включающего сигнал секреции и константный участок каппа-цепи человека и поли(А) добавочный сигнал, фрагмента ДНК, кодирующего полипептид, который включает сигнал IgG1 человека, константный домен и Лидерную последовательность, а также аминокислотная последовательность CDRs моноклональных антител крысы против AXL человека 11B7 и 11D5, тяжелой и легкой цепей химерного антитела #11B7 (IgG1/каппа), тяжелой и легкой цепей химерного антитела #11D5 (IgG1/каппа) и лидерной последовательности.

Фигура 15. А. Анализ с помощью проточной цитометрии присутствия AXL на клеточной поверхности фибробластов RatI-Mock и RatI-AXL c1.2. Поликлональные RatI-Mock и клональные RatI-AXL c1.2 клетки, полученные путем инфицирования фибробластов RatI экотрофным вирусом pLXSN и pLXSN-hAXL соответственно, были собраны и прокрашены контрольным антителом мыши 72A1 (левая панель) или первичным антителом мыши МАВ154 против AXL (правая панель) в концентрации 3 мкг/мл и РЕ-конъюгированными анти-мышинными вторичными антителами. Для выяснения деталей смотри текст. Прокрашивание клеток RatI-AXL c1.2 приводит к сдвигу на три порядка величины и демонстрирует сверхэкспрессию AXL на поверхности этих клеток,

В. Анализ с помощью проточной цитометрии присутствия AXL на клеточной поверхности фибробластов NIH3T3-Mock и NIH3T3-AXL c1.7. Поликлональные NIH3T3-Mock и клональные NIH3T3-AXL c1.7. клетки, полученные путем инфицирования фибробластов NIH3T3 экотрофным вирусом pLXSN и pLXSN-AXL соответственно, были собраны и прокрашены контрольным антителом мыши 72A1 (левая панель) или первичным антителом мыши МАВ154 против AXL (правая панель) в концентрации 3 мкг/мл и РЕ-конъюгированными анти-мышинными вторичными антителами. Для выяснения деталей смотри текст. Прокрашивание клеток NIH3T3-AXL c1.7 приводит к сдвигу на два порядка величины и демонстрирует сверхэкспрессию AXL на

поверхности этих клеток.

Фигура 16. Модель ортотопического ксенотрансплантата для изучения влияния антител крысы против AXL на рост карциномы простаты человека в безтимусных мышцах. Клетки карциномы простаты PC-3-LN были ортотопически имплантированы в простату мышей NMRI-nu/nu. Животные были случайным образом разделены на 4 группы и получали 25 мг/кг изотипного контрольного антитела 1D5 или антагонистического антитела крысы 11B7 против AXL, а также 40 мг/кг Сутента или 12,5 мг/кг Таксотера. В ходе лечения рост ортотопически имплантированных опухолей PC-3-LN и периферических метастазов анализировался один раз в неделю с помощью биолюминесцентного анализа *in vivo* в день 15, день 23, день 29 и день 34. Для выяснения деталей смотри текст. По сравнению с изотипным контрольным антителом 1D5 антагонистическое антитело крысы 11B7 против AXL снижало общий рост опухолей простаты PC-3-LN у безтимусных мышей.

Фигура 17. Модель ортотопического ксенотрансплантата для изучения влияния антител крысы против AXL на метастазирование карциномы простаты человека в безтимусных мышцах. Клетки карциномы простаты PC-3-LN были ортотопически имплантированы в простату мышей NMRI-nu/nu. Животные были случайным образом разделены на 4 группы и получали 25 мг/кг изотопического контрольного антитела 1D5 или антагонистического антитела крысы 11B7 против AXL, а также 40 мг/кг Сутента или 12,5 мг/кг Таксотера. После вскрытия животных были взяты некоторые органы (печень, селезенка, легкое, бедренная кость и часть поясничного отдела позвоночника) и проанализированы на наличие метастазов с помощью биолюминесцентного анализа. Для выяснения деталей смотри текст. По сравнению с изотопическим контрольным антителом 1D5 антагонистическое антитело крысы 11B7 против AXL настоящего изобретения снижало появление метастазов в селезенке. Необходимо отметить, что антиметастатический эффект 11B7 в этом эксперименте был сильнее, чем таковой Сутента.

Фигура 18: На этой Фигуре показана конструкция вектора pEF6KCL.

Фигура 19: На этой Фигуре показана связывающая активность гуманизированных антител крысы против AXL человека от h#11B7-T1 до h#11B7-T6, определенная методом ELISA с использованием планшета, покрытого AXL-Fc человека.

Фигура 20: На этой Фигуре показана связывающая активность гуманизированных антител крысы против AXL человека от h#11B7-T7 до h#11B7-T13, определенная методом ELISA с использованием планшета, покрытого AXL-Fc человека.

Фигура 21: На этой Фигуре показана связывающая активность гуманизированных антител крысы против AXL человека от h#11B7-T14 до h#NB7-T20, определенная методом ELISA с использованием планшета, покрытого AXL-Fc человека.

Фигура 22: На этой Фигуре показана связывающая активность гуманизированных антител крысы против AXL человека от h#NB7-T21 до h#NB7-T27, определенная методом ELISA с использованием планшета, покрытого AXL-Fc человека.

Фигура 23: На этой Фигуре показана связывающая активность гуманизированных антител крысы против AXL человека от h#11D5-T1 до h#11D5-T6, определенная методом ELISA с использованием планшета, покрытого AXL-Fc человека.

Фигура 24 (верхняя и нижняя панели): На этой Фигуре показана концентрация белка гуманизированных антител крысы против AXL человека от h#11B7-T1 до h#NB7-T27, определенная методом прямого измерения поглощения белка.

Фигура 25: На этой Фигуре показана концентрация белка гуманизированных антител крысы против AXL человека от h#11D5-T1 до h#11D5-T6, определенная методом прямого

измерения поглощения белка.

Фигура 26: На этой Фигуре показано определение домена на антигене AXL человека, с которым связывается моноклональное антитело крысы #11B7 против AXL человека.

Фигура 27. Эксперименты ELISA для исследования эффектов гуманизированных антител 11B7 против AXL на фосфорилирование рецептора AXL. Клетки рака молочной железы Hs578T (вверху) и клетки рака легких NCI-H292 (внизу) были истощены, проинкубированы с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard, химерных mAb chm11B7 (IgG1/Kappa) антител против AXL и гуманизированных антител против AXL h#NB7-T2, h#NB7-T3, h#NB7-T4, h#NB7-T5 и h#NB7-T6 (T2-T6) настоящего изобретения, обработаны или не обработаны 400 нг/мл mGas6 и лизированы. Лизаты переносили в покрытый антителом 4G10 против фосфотирозина 96-луночный планшет Maxi-Sorp, который после этого промывали и инкубировали с 0,125 мкг/мл биотинилированного антитела крысы 12B7 против AXL, АР-конъюгированным стрептавидином и раствором субстрата AttoPhos для измерения интенсивности флуоресценции. Для выяснения деталей смотри текст. По сравнению с контрольным антителом Gammagard, химерное антитело против AXL chm11B7 и гуманизированные антитела против AXL h#NB7-T2, h#NB7-T3, h#NB7-T4, h#NB7-T5 и h#NB7-T6 настоящего изобретения были способны блокировать или достоверно снижать опосредованную Gas6 активацию AXL в обеих клеточных линиях, что видно по уменьшению уровней фосфорилирования тирозина в AXL в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими нестимулированными клетками.

Фигура 28А. Эксперименты Вестерн-Блот для исследования эффектов гуманизированных антител 11B7 против AXL на фосфорилирование ERK1/2. Клетки рака молочной железы Hs578T (вверху) и клетки рака легких NCI-H292 (внизу) были истощены, проинкубированы с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard, химерного mAb chm11B7 (IgG1/Kappa) антитела против AXL или гуманизированных антител против AXL h#NB7-T2, h#NB7-T3, h#NB7-T4, h#NB7-T5 и h#NB7-T6 настоящего изобретения до обработки или без обработки 400 нг/мл mGas6 и лизированы. Лизаты целых клеток разделяли SDS-электрофорезом в ПААГ и анализировали методом Вестерн-блоттинга с применением антитела против фосфо- р44/42 MAP киназы (Thr202/Tyr204). После этого те же самые фильтры повторно обрабатывали антителом против р44/42 MAP киназы. Для выяснения деталей смотри текст. По сравнению с контрольным антителом Gammagard химерное антитело chm11B7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#NB7-T2, h#NB7-T3, h#NB7-T4, h#NB7-T5 и h#NB7-T6 настоящего изобретения препятствовали слабому Gas6-индуцированному увеличению активации ERK1/2 в клетках рака молочной железы Hs578T. Однако, вследствие высокой базальной активности ERK1/2 в этой клеточной линии эти эффекты, которые указывают на сниженные уровни фосфорилирования ERK1/2 Thr202/Tyr204 в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими не стимулированными клетками являются только относительно небольшими. В противоположность этому, ингибиторные эффекты химерного антитела chm11B7 против AXL и гуманизированных антител против AXL h#NB7-T2, h#NB7-T3, h#NB7-T4, h#NB7-T5, или h#NB7-T6 на фосфорилирование ERK1/2 Thr202/Tyr204 являются значительно более явно выраженными в клетках рака легких NCI-H292.

Фигура 28В. Эксперименты Вестерн-Блот для исследования эффектов гуманизированных антител 11B7 против AXL на фосфорилирование АКТ. Клетки рака молочной железы Hs578T (вверху) и клетки рака легких NCI-H292 (внизу) были истощены, проинкубированы с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard, химерного

mAb chm11B7 (IgG1/Kappa) антитела против AXL или гуманизированных антител против AXL h#HB7-T2, h#HB7-T3, h#HB7-T4, h#HB7-T5 и h#HB7-T6 настоящего изобретения до обработки или без обработки 400 нг/мл mGas6 и лизированы. Лизаты целых клеток разделяли SDS-электрофорезом в ПААГ и анализировали методом Вестерн-блоттинга с применением антитела против АКТ 1/2/3. После этого тот же самый фильтр повторно обрабатывали антителом против фосфо-АКТ (Ser473). Для выяснения деталей смотри текст. По сравнению с контрольным антителом Gammagard химерное антитело chm11B7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#HB7-T2, h#HB7-T3, h#HB7-T4, h#HB7-T5 и h#HB7-T6 настоящего изобретения были способны достоверно снижать Gas6-индуцируемую активацию АКТ в клетках рака молочной железы Hs578T (вверху) и клетках рака легких NCI-H292 (внизу), что видно по уменьшенным уровням фосфорилирования АКТ Ser473 в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими не стимулированными клетками.

Фигура 28C. Эксперименты Вестерн-Блот для исследования эффектов гуманизированных антител 11B7 против AXL на фосфорилирование GSK-3 $\alpha$ . Клетки рака молочной железы Hs578T (вверху) и клетки рака легких NCI-H292 (внизу) были истощены, проинкубированы с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard, химерного mAb chm11B7 (IgG1/Kappa) антитела против AXL или гуманизированных антител против AXL h#HB7-T2, h#HB7-T3, h#HB7-T4, h#HB7-T5 и h#HB7-T6 настоящего изобретения до обработки или без обработки 400 нг/мл mGas6 и лизированы. Лизаты целых клеток разделяли SDS-электрофорезом в ПААГ и анализировали методом Вестерн-блоттинга с применением антитела против фосфо-GSK-3 $\beta$  (Ser9). После этого тот же самый фильтр повторно обрабатывали антителом против GSK-3 $\beta$ . Для выяснения деталей смотри текст. По сравнению с контрольным антителом Gammagard химерное антитело chm11B7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#HB7-T2, h#HB7-T3, h#HB7-T4, h#HB7-T5 и h#HB7-T6 настоящего изобретения были способны достоверно снижать Gas6-индуцируемую активацию GSK-3 $\beta$  в клетках рака молочной железы Hs578T (вверху) и клетках рака легких NCI-H292 (внизу), что видно по уменьшенным уровням фосфорилирования GSK-3 $\beta$  Ser9 в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими не стимулированными клетками.

Фигура 28D. Эксперименты Вестерн-Блот для исследования эффектов гуманизированных антител 11B7 против AXL на фосфорилирование TCS2. Клетки рака молочной железы Hs578T (вверху) и клетки рака легких NCI-H292 (внизу) были истощены, проинкубированы с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard, химерного mAb chm11B7 (IgG1/Kappa) антитела против AXL или гуманизированных антител против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 настоящего изобретения до обработки или без обработки 400 нг/мл mGas6 и лизированы. Лизаты целых клеток разделяли SDS-электрофорезом в ПААГ и анализировали методом Вестерн-блоттинга с применением антитела против TSC2. После этого тот же самый фильтр повторно обрабатывали антителом против фосфо-T8C2 (Thr1462). Для выяснения деталей смотри текст. По сравнению с контрольным антителом Gammagard химерное антитело chm11B7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 настоящего изобретения были способны достоверно снижать Gas6-индуцируемое фосфорилирование TCS2 по Thr1462 в клетках рака молочной железы Hs578T (вверху) и клетках рака легких NCI-H292 (внизу), что видно по уменьшенным уровням фосфорилирования этого аминокислотного остатка в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими не стимулированными клетками.



Фигура 28Е. Эксперименты Вестерн-Блот для исследования эффектов гуманизированных антител 11В7 против AXL на фосфорилирование mTOR. Клетки рака молочной железы Hs578Т (вверху) и клетки рака легких NCI-H292 (внизу) были истощены, проинкубированы с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard, химерного mAb chm11В7 (IgG1/Карра) антитела против AXL или гуманизированных антител против AXL h#11В7-Т2, h#11В7-Т3, h#11В7-Т4, h#11В7-Т5 и h#11В7-Т6 настоящего изобретения до обработки или без обработки 400 нг/мл mGas6 и лизированы. Лизаты целых клеток разделяли SDS-электрофорезом в ПААГ и анализировали методом Вестерн-блоттинга с применением антитела против фосфо-mTOR (Ser2448). После этого тот же самый фильтр повторно обрабатывали антителом против mTOR. Для выяснения деталей смотри текст. Ингибиторные эффекты антител против AXL в клетках рака молочной железы Hs578Т были относительно слабыми (вверху). Однако по сравнению с контрольным антителом Gammagard химерное антитело chm11В7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#11В7-Т2, h#11В7-Т3, h#11В7-Т4, h#11В7-Т5 и h#11В7-Т6 настоящего изобретения были способны ослаблять Gas6-индуцируемую активацию mTOR в клетках рака легких NCI-H292, что видно по уменьшенным уровням фосфорилирования mTOR Ser2448 в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими не стимулированными клетками (внизу).

Фигура 28F. Эксперименты Вестерн-Блот для исследования эффектов гуманизированных антител 11В7 против AXL на фосфорилирование S6K1. Клетки рака молочной железы Hs578Т (вверху) и клетки рака легких NCI-H292 (внизу) были истощены, преинкубированы с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard, химерного mAb chm11В7 (IgG1/Карра) антитела против AXL или гуманизированных антител против AXL h#NB7-Т2, h#NB7-Т3, h#NB7-Т4, h#NB7-Т5 и h#NB7-Т6 настоящего изобретения до обработки или без обработки 400 нг/мл mGas6 и лизированы. Лизаты целых клеток разделяли SDS-электрофорезом в ПААГ и анализировали методом Вестерн-блоттинга с применением антитела против фосфо-p70 S6 Киназы 1 (Thr421/Ser424). После этого тот же самый фильтр повторно обрабатывали антителом против β-актина. Для выяснения деталей смотри текст. По сравнению с контрольным антителом Gammagard химерное антитело chm11В7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#NB7-Т2, h#NB7-Т3, h#NB7-Т4, h#NB7-Т5 и h#NB7-Т6 настоящего изобретения продемонстрировали некоторые ингибиторные эффекты на Gas6-индуцируемую активацию S6K1 в клетках рака молочной железы Hs578Т, что видно по уменьшенным уровням фосфорилирования S6K1 Thr421/Ser424 в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими не стимулированными клетками (вверху). Однако гораздо более значительное снижение Gas6-стимулируемого фосфорилирования S6K1 Thr421/Ser424 и, следовательно, снижение активации после предварительной обработки химерным антителом chm11В7 против AXL и гуманизированными антителами против AXL h#NB7-Т2, h#NB7-Т3, h#NB7-Т4, h#NB7-Т5 или h#NB7-Т6 настоящего изобретения можно наблюдать в клетках рака легких NCI-H292 (внизу).

Фигура 29. Эксперименты ELISA для исследования эффектов гуманизированных антител 11D5 против AXL на фосфорилирование рецептора AXL. Клетки рака молочной железы Hs578Т были истощены, преинкубированы с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard, химерного mAb chm11В7 (IgG1/Карра) антитела против AXL или гуманизированных антител против AXL h#11В7-Т2, h#11В7-Т3, h#11В7-Т4, h#NB7-Т5 и h#NB7-Т6 настоящего изобретения, обработаны или не обработаны 400 нг/мл mGas6 и лизированы. Лизаты переносили в покрытый антителом 4G10 против фосфотирозина 96-луночный планшет Maxi-Sorp, который после этого промывали и инкубировали с

0,125 мкг/мл биотинилированного антитела крысы 12В7 против AXL, AP-конъюгированным стрептавидином и раствором субстрата AttoPhos для измерения интенсивности флуоресценции. Для выяснения деталей смотри текст. По сравнению с контрольным антителом Gammagard химерное антитело chm11В7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#11В7-Т2, h#11В7-Т3, h#11В7-Т4, h#11В7-Т5 и h#НВ7-Т6 настоящего изобретения были способны блокировать или достоверно снижать опосредованную Gas6 активацию AXL, что видно по уменьшению уровней фосфорилирования тирозина в AXL в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими нестимулированными клетками.

Фигура 30А: Аминокислотная последовательность AXL человека. Accession No. P\_30530, база данных по белкам NCBI.

Фигура 30В: Аминокислотная последовательность переменного участка легкой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека 11В7.

Фигура 30С: Аминокислотная последовательность переменного участка тяжелой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека 11В7.

Фигура 30D: Аминокислотная последовательность переменного участка легкой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека 11D5.

Фигура 30Е: Аминокислотная последовательность переменного участка тяжелой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека 11D5.

Фигура 31. Эксперименты ELISA для сравнения эффектов антител крысы и химерных антител против AXL на фосфорилирование AXL. Клетки рака шейки матки CaSki были истощены, проинкубированы с 50 нг/мл, 100 нг/мл, 300 нг/мл, 750 нг/мл, 1 мкг/мл и 10 мкг/мл антитела крысы против AXL 11В7 (А) или химерного антитела против AXL ch11В7 (В), обработаны или не обработаны 400 нг/мл mGas6 и лизированы. Лизаты переносили в покрытый антителом 4G10 против фосфотирозина 96-луночный планшет Maxi-Sorp. После этого планшет промывали и инкубировали с 0,5 мкг/мл биотинилированного антитела крысы 12В7 против AXL, AP-конъюгированным стрептавидином и раствором субстрата AttoPhos для измерения интенсивности флуоресценции. Для выяснения деталей смотри текст. Как видно из концентрационно-зависимого снижения относительного фосфорилирования AXL в клеточной линии рака шейки матки CaSki, антитело крысы 11В7 против AXL (А) и химерное антитело ch11В7 (В) настоящего изобретения были способны блокировать лиганд-индуцируемую активацию рецепторной тирозинкиназы AXL в одинаковой степени.

Фигура 32А: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных переменных участков легкой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11В7, обозначенного как h#НВ7-Т15L и h#НВ7-Т18L, соответственно.

Фигура 32В: На этой Фигуре показана аминокислотная последовательность гуманизированных переменных участков тяжелой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека #11В7, обозначенного как h#11В7-Т11Н и h#11В7-Т12Н, соответственно.

Фигура 33: На этой Фигуре показана связывающая активность гуманизированных антител крысы против AXL человека от h#11В7-Т28 до h#НВ7-Т31, определенная методом ELISA с использованием планшетов, покрытых AXL-Fc человека (ELISA).

Фигура 34: На этой Фигуре показана концентрация белка гуманизированных антител крысы против AXL человека от h#НВ7-Т28 до h#НВ7-Т31, измеренная методом ВЭЖХ (HPLC assay) (Смотри Пример 24).

Фигуры от 35(1) до 35(32): Эти Фигуры описывают определение Tm

гуманизированных антител крысы против AXL человека от h#11B7-T1 до h#11B7-T31 и химерного антитела h#HB7 методом дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC).

5 Фигура 36. Эксперименты ELISA для исследования эффектов гуманизированных антител 11B7 против AXL на фосфорилирование рецептора AXL. Клетки рака молочной железы Hs578T (вверху) и клетки рака легких NCI-H292 (внизу) были истощены, проинкубированы без антител или с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard или гуманизированных антител против AXL 11B7-T5, 11B7-T6, 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 настоящего изобретения, обработаны или не обработаны 400 нг/мл mGas6 и  
10 лизированы. Лизаты переносили в покрытый антителом 4G10 против фосфотирозина 96-луночный планшет Maxi-Sorp, который после этого промывали и инкубировали с 0,125 мкг/мл биотинилированного антитела крысы 12B7 против AXL, AP-конъюгированным стрептавидином и раствором субстрата AttoPhos для измерения интенсивности флуоресценции. Для выяснения деталей смотри текст. По сравнению с  
15 контрольным антителом Gammagard гуманизированные антитела против AXL 11B7-T5, 11B7-T6, 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 настоящего изобретения достоверно снижали опосредованную Gas6 активацию AXL в обеих клеточных линиях, что видно по уменьшению уровней фосфорилирования тирозина в AXL в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими нестимулированными клетками.

20 Фигура 37. Эксперименты ELISA для исследования эффектов гуманизированных антител 11B7 против AXL на фосфорилирование Akt-киназы. Клетки рака молочной железы Hs578T (вверху) и клетки рака легких NCI-H292 (внизу) были истощены, проинкубированы без антител или с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard или гуманизированных антител против AXL 11B7-T5, 11B7-T6, 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 настоящего изобретения, обработаны или не обработаны 400 нг/мл mGas6 и  
25 зафиксированы формальдегидом. Клетки были промыты, погашены (quenched) и проинкубированы с первичным антителом против фосфо-Akt (Ser473), HRP-конъюгированным анти-кроличьим вторичным антителом и раствором тетраметилбензидина для измерения интенсивности поглощения. Для выяснения деталей  
30 смотри текст. По сравнению с контрольным антителом Gammagard гуманизированные антитела против AXL 11B7-T5, 11B7-T6, 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 настоящего изобретения были способны блокировать или снижать опосредованную Gas6 активацию Akt-киназы в обеих клеточных линиях, что видно по уменьшению уровней фосфорилирования Akt (Ser473) в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с  
35 соответствующими нестимулированными клетками.

Фигура 38. Анализ FACS для исследования эффектов гуманизированных антител 11B7 против AXL на интернализацию рецептора AXL. Клетки рака молочной железы Hs578T были истощены, инкубированы без антител или с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard или гуманизированных антител против AXL 11B7-T5, 11B7-T6,  
40 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 настоящего изобретения в течение указанных периодов времени и зафиксированы формальдегидом. Клетки были покрашены первичным антителом крысы против AXL mAb 2A1 и PE-конъюгированным вторичным антителом осла против IgG крысы, после чего был проведен анализ FACS. Для выяснения деталей  
смотри текст. В противоположность контрольному антителу Gammagard, обработка  
45 клеток рака молочной железы Hs578T гуманизированными антителами против AXL 11B7-T5, 11B7-T6, 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 приводит к интернализации рецептора AXL. Показаны относительные уровни экспрессии AXL в %, определенные как средние интенсивности флуоресценции обработанных mAb против AXL образцов по отношению

к необработанным образцам за соответствующий период обработки.

Фигура 39 А+В. Анализ клеточного ангиогенеза на основе использования сфероидов для исследования эффектов гуманизированных антител 11В7 против AXL с применением прорастающих Gas6-индуцированных эпителиальных клеток. Сфероиды HUVEC, преобработанные VEGF-A, помещались в трехмерный коллагеновый гель, стимулировались 1 мг/мл Gas6 человека и обрабатывались указанными концентрациями контрольного антитела Gammagard или гуманизированных антител против AXL 11В7-T5, 11В7-T6, 11В7-T11, 11В7-T23 и 11В7-T25 настоящего изобретения в течение 24 часов. Было проанализировано среднее значение  $\pm$  SEM суммарной длины отростков 10 случайным образом выбранных сфероидов на каждую точку (левая панель), и было определено относительное ингибирование антителом (правая панель). Построение кривых IC<sub>50</sub> и расчет значений IC<sub>50</sub> проводили с использованием программы GraphPad Prism 4.03. Для выяснения деталей смотри текст.

#### Описание Последовательностей

[SEQ ID NO:1] нуклеотидная последовательность праймера для амплификации Фрагмента А, обозначенного как Праймер EFF1

[SEQ ID NO:2] нуклеотидная последовательность праймера для амплификации Фрагмента А, обозначенного как Праймер EFsmaR

[SEQ ID NO:3] нуклеотидная последовательность Фрагмента В, включающая сигнал секретиции и константный участок каппа-цепи человека, и сигнал для добавления поли (А)

[SEQ ID NO:4] нуклеотидная последовательность Фрагмента ДНК, включающая нуклеотидную последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность сигнальной последовательности и константного участка IgG1 человека

[SEQ ID NO:5] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HB7-T1L, сигнальную последовательность (1-60), переменный участок (61-387), константный участок (388-702)

[SEQ ID NO:6] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HB7-T2L, сигнальную последовательность (1-60), переменный участок (61-387), константный участок (388-702)

[SEQ ID NO:7] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HB7-T3L, сигнальную последовательность (1-60), переменный участок (61-387), константный участок (388-702)

[SEQ ID NO:8] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HB7-T4L, сигнальную последовательность (1-60), переменный участок (61-387), константный участок (388-702)

[SEQ ID NO:9] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HB7-T5L, сигнальную последовательность (1-60), переменный участок (61-387), константный участок (388-702)

[SEQ ID NO:10] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HB7-T6L, сигнальную последовательность (1-60), переменный участок (61-387), константный участок (388-702)

[SEQ ID NO:11] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HB7-T7L, сигнальную последовательность (1-60), переменный участок (61-387), константный участок (388-702)

[SEQ ID NO:12] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HB7-T8L, сигнальную последовательность (1-60), переменный участок (61-387), константный участок (388-702)



[SEQ ID NO:29] аминокислотная последовательность h#HB7-T12L, сигнальная последовательность (1-20), вариабельный участок (21-129), константный участок (130-234)

[SEQ ID NO:30] аминокислотная последовательность h#11B7-T13L, сигнальная  
5 последовательность (1-20), вариабельный участок (21-129), константный участок (130-  
234)

[SEQ ID NO:31] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#NB7-T1N, сигнальную последовательность (1-57), переменный участок (58-396), константный участок (397-1386)

10 [SEQ ID NO:32] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#NB7-T2H, сигнальную последовательность (1-57), вариабельный участок (58-396), константный участок (397-1386)

[SEQ ID No:33] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#NB7-ТЗН, сигнальную последовательность (1-57), вариабельный 15 участок (58-396), константный участок (397-1386)

[SEQ ID NO:34] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#NB7-T4H, сигнальную последовательность (1-57), вариабельный участок (58-396), константный участок (397-1386)

[SEQ ID NO:35] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную  
20 последовательность h#NB7-T5H, сигнальную последовательность (1-57), вариабельный  
участок (58-396), константный участок (397-1386)

[SEQ ID NO:362] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#NB7-T6H, сигнальную последовательность (1-57), вариабельный участок (58-396), константный участок (397-1386)

25 [SEQ ID NO:37] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#NB7-T7H, сигнальную последовательность (1-57), вариабельный участок (58-396), константный участок (397-1386)

[SEQ ID NO:38] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#NB7-T8H, сигнальную последовательность (1-57), вариабельный 30 участок (58-396), константный участок (397-1386)

[SEQ ID NO:39] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HB7-T9H, сигнальную последовательность (1-57), переменный участок (58-396), константный участок (397-1386)

[SEQ ID NO:40] аминокислотная последовательность h#HB7-T1H, сигнальная  
35 последовательность (1-19), вариабельный участок (20-132), константный участок (133-  
462)

[SEQ ID NO:41] аминокислотная последовательность h#HB7-T2H, сигнальная последовательности (1-19), переменный участок (20-132), константный участок (133-462)

40 [SEQ ID NO:42] аминокислотная последовательность h#HB7-Т3Н, сигнальная последовательность (1-19), вариабельный участок (20-132), константный участок (133-462)

[SEQ ID NO:43] аминокислотная последовательность h#11B7-T4H, сигнальная последовательность (1-19), вариабельный участок (20-132), константный участок (133-462)

[SEQ ID NO:44] аминокислотная последовательность h#HB7-T5H, сигнальная последовательность (1-19), переменный участок (20-132), константный участок (133-462)

[SEQ ID NO:45] аминокислотная последовательность h#HB7-T6H, сигнальная последовательность (1-19), переменный участок (20-132), константный участок (133-462)

[SEQ ID NO:46] аминокислотная последовательность h#HB7-T7H, сигнальная  
5 последовательность (1-19), вариабельный участок (20-132), константный участок (133-  
462)

[SEQ ID NO:47] аминокислотная последовательность h#HB7-T8H, сигнальная последовательность (1-19), вариабельный участок (20-132), константный участок (133-462)

10 [SEQ ID NO:48] аминокислотная последовательность h#HB7-T9H, сигнальная последовательности (1-19), вариабельный участок (20-132), константный участок (133-462)

[SEQ ID NO:49] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#11D5-T1L, сигнальную последовательность (1-60), переменный участок (61-387), константный участок (388-702)

[SEQ ID NO:50] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HD5-T2L, сигнальную последовательность (1-60), вариабельный участок (61-387), константный участок (388-702)

[SEQ ID NO:51] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную  
20 последовательность h#HD5-T3L, сигнальную последовательность (1-60), вариабельный  
участок (61-387), константный участок (388-702)

[SEQ ID NO:52] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HD5-T4L, сигнальную последовательность (1-60), переменный участок (61-387), константный участок (388-702)

25 [SEQ ID NO:53] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HD5-T5L, сигнальную последовательность (1-60), вариабельный участок (61-387), константный участок (388-702)

[SEQ ID NO:54] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HD5-T6L, сигнальную последовательность (1-60), вариабельный 30 участок (61-387), константный участок(388-702)

[SEQ ID NO:55] аминокислотная последовательность h#HD5-T1L, сигнальная последовательность (1-20), варибельный участок (21-129), константный участок (130-234)

[SEQ ID N0:56] аминокислотная последовательность h#HD5-T2L, сигнальная  
35 последовательность (1-20), вариабельный участок (21-129), константный участок (130-  
234)

[SEQ ID NO:57] аминокислотная последовательность h#HD5-T3L, сигнальная последовательность (1-20), переменный участок (21-129), константный участок (130-234)

40 [SEQ ID NO:58] аминокислотная последовательность h#HD5-T4L, сигнальная последовательность (1-20), вариабельный участок (21-129), константный участок (130-234)

[SEQ ID NO:59] аминокислотная последовательность h#HD5-T5L, сигнальная последовательность (1-20), вариабельный участок (21-129), константный участок (130-234)

[SEQ ID NO:60] аминокислотная последовательность h#HD5-T6L, сигнальная последовательность (1-20), переменный участок (21-129), константный участок (130-234)

[SEQ ID NO:61] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HD5-T1H, сигнальную последовательность (1-57), вариабельный участок (58-396), константный участок (297-1386)

[SEQ ID NO:62] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HD5-T2H, сигнальную последовательность (1-57), вариабельный участок (58-396), константный участок (297-1386)

[SEQ ID NO:63] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HD5-Т3Н, сигнальную последовательность (1-57), вариабельный участок (58-396), константный участок (297-1386)

[SEQ ID NO:64] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HD5-T4H, сигнальную последовательность (1-57), вариабельный участок (58-396), константный участок (297-1386)

[SEQ ID NO:65] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HD5-T5H, сигнальную последовательность (1-57), вариабельный участок (58-396), константный участок (297-1386)

[SEQ ID NO:66] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#11D5-T6H, сигнальную последовательность (1-57), вариабельный участок (58-396), константный участок (297-1386)

[SEQ ID NO:67] аминокислотная последовательность h#11D5-T1H, сигнальная последовательность (1-19), переменный участок (20-132), константный участок (133-462)

[SEQ ID NO:68] аминокислотная последовательность h#HD5-T2H, сигнальная последовательности (1-19), вариабельный участок (20-132), константный участок (133-462)

[SEQ ID NO:69] аминокислотная последовательность h#11D5-ТЗН, сигнальная последовательность (1-19), вариабельный участок (20-132), константный участок (133-462)

[SEQ ID NO:70] аминокислотная последовательность h#HD5-T4H, сигнальная последовательность (1-19), переменный участок (20-132), константный участок (133-462)

[SEQ ID NO:71] аминокислотная последовательность h#HD5-T5H, сигнальная последовательность (1-19), варибельный участок (20-132), константный участок (133-462)

[SEQ ID NO:72] аминокислотная последовательность h#HD5-T6H, сигнальная последовательность (1-19), переменный участок (20-132), константный участок (133-462)

[SEQ ID NO:73] аминокислотная последовательность h#11B7-T14L, переменный участок

[SEQ ID NO:74] аминокислотная последовательность h#11B7-T15L, переменный участок

[SEQ ID NO:75] аминокислотная последовательность h#11B7-T16L, переменный участок

[SEQ ID NO:76] аминокислотная последовательность h#11B7-T17L, переменный участок

[SEQ ID NO:77] аминокислотная последовательность h#11B7-T18L, переменный участок

[SEQ ID NO:78] аминокислотная последовательность h#11B7-T19L, переменный участок



[SEQ ID NO:79] аминокислотная последовательность h#11B7-T20L, переменный участок

[SEQ ID NO:80] аминокислотная последовательность h#HB7-T10H, переменный участок

5 [SEQ ID NO:81] аминокислотная последовательность h#11B7-T11H, переменный участок

[SEQ ID NO:82] аминокислотная последовательность h#HB7-T12H, переменный участок

10 [SEQ ID NO:83] аминокислотная последовательность h#11D5-T7L, переменный участок

[SEQ ID NO:84] аминокислотная последовательность h#11D5-T8L, переменный участок

[SEQ ID NO:85] аминокислотная последовательность h#11D5-T9L, переменный участок

15 [SEQ ID NO:86] аминокислотная последовательность h#HD5-T10L, переменный участок

[SEQ ID NO:87] аминокислотная последовательность h#11D5-T11L, переменный участок

20 [SEQ ID NO:88] аминокислотная последовательность h#HD5-T12L, переменный участок

[SEQ ID NO:89] аминокислотная последовательность h#HD5-T13L, переменный участок

[SEQ ID NO:90] аминокислотная последовательность h#HD5-T14L, переменный участок

25 [SEQ ID NO:91] аминокислотная последовательность h#HD5-T15L, переменный участок

[SEQ ID NO:92] аминокислотная последовательность h#11D5-T16L, переменный участок

30 [SEQ ID NO:93] аминокислотная последовательность h#HD5-T17L, переменный участок

[SEQ ID NO:94] аминокислотная последовательность h#HD5-T18L, переменный участок

[SEQ ID NO:95] аминокислотная последовательность h#HD5-T19L, переменный участок

35 [SEQ ID NO:96] аминокислотная последовательность h#HD5-T20L, переменный участок

[SEQ ID NO:97] аминокислотная последовательность h#HD5-T21L, переменный участок

40 [SEQ ID NO:98] аминокислотная последовательность h#HD5-T22L, переменный участок

[SEQ ID NO:99] аминокислотная последовательность h#HD5-T23L, переменный участок

[SEQ ID NO:100] аминокислотная последовательность h#HD5-T24L, переменный участок

45 [SEQ ID NO:101] аминокислотная последовательность h#HD5-T25L, переменный участок

[SEQ ID NO:102] аминокислотная последовательность h#HD5-T26L, переменный участок

- [SEQ ID NO:103] аминокислотная последовательность h#HD5-T27L, вариабельный участок
- [SEQ ID NO:104] аминокислотная последовательность h#HD5-T28L, вариабельный участок
- 5 [SEQ ID NO:105] аминокислотная последовательность h#HD5-T29L, вариабельный участок
- [SEQ ID NO:106] аминокислотная последовательность h#HD5-T30L, вариабельный участок
- [SEQ ID NO:107] аминокислотная последовательность h#11D5-T31L, вариабельный
- 10 участок
- [SEQ ID NO:108] аминокислотная последовательность h#HD5-T32L, вариабельный участок
- [SEQ ID NO:109] аминокислотная последовательность h#HD5-T33L, вариабельный участок
- 15 [SEQ ID NO:110] аминокислотная последовательность h#HD5-T34L, вариабельный участок
- [SEQ ID NO:111] аминокислотная последовательность h#HD5-T35L, вариабельный участок
- [SEQ ID NO:112] аминокислотная последовательность h#HD5-T36L, вариабельный
- 20 участок
- [SEQ ID NO:113] аминокислотная последовательность h#HD5-T37L, вариабельный участок
- [SEQ ID NO:114] аминокислотная последовательность h#HD5-T7H, вариабельный участок
- 25 [SEQ ID NO:115] аминокислотная последовательность h#HD5-T8H, вариабельный участок
- [SEQ ID NO:116] аминокислотная последовательность h#HD5-T9H, вариабельный участок
- [SEQ ID NO:117] аминокислотная последовательность h#HD5-T10H, вариабельный
- 30 участок
- [SEQ ID NO:118] аминокислотная последовательность h#11D5-T11H, вариабельный участок
- [SEQ ID NO:119] аминокислотная последовательность h#11D5-T12H, вариабельный участок
- 35 [SEQ ID NO:120] аминокислотная последовательность h#HD5-T13H, вариабельный участок
- [SEQ ID NO:121] аминокислотная последовательность 11B7 Легкая цепь CDRL4
- [SEQ ID NO:122] аминокислотная последовательность 11B7 Легкая цепь CDRL5
- [SEQ ID NO:123] аминокислотная последовательность 11B7 Легкая цепь CDRL6
- 40 [SEQ ID NO:124] аминокислотная последовательность 11B7 Тяжелая цепь CDRH1
- [SEQ ID NO:125] аминокислотная последовательность 11B7 Тяжелая цепь CDRH2
- [SEQ ID NO:126] аминокислотная последовательность 11B7 Тяжелая цепь CDRH3
- [SEQ ID NO:127] аминокислотная последовательность 11D5 Легкая цепь CDRL4
- [SEQ ID NO:128] аминокислотная последовательность 11D5 Легкая цепь CDRL5
- 45 [SEQ ID NO:129] аминокислотная последовательность 11D5 Легкая цепь CDRL6
- [SEQ ID NO:130] аминокислотная последовательность 11D5 Тяжелая цепь CDRH1
- [SEQ ID NO:131] аминокислотная последовательность 11D5 Тяжелая цепь CDRH2
- [SEQ ID NO:132] аминокислотная последовательность 11D5 Тяжелая цепь CDRH3

[SEQ ID NO:133] нуклеотидная последовательность Лидерной последовательности  
 [SEQ ID NO:134] аминокислотная последовательность Лидерной последовательности  
 [SEQ ID NO:135] аминокислотная последовательность #11B7-химерной легкой цепи  
 [SEQ ID NO:136] аминокислотная последовательность #11B7-химерной тяжелой цепи  
 5 [SEQ ID NO:137] аминокислотная последовательность #11D5-химерной легкой цепи  
 [SEQ ID NO:138] аминокислотная последовательность #11D5-химерной тяжелой цепи  
 [SEQ ID NO:139] аминокислотная последовательность AXL человека, Accession No. P\_30530 базы данных по белкам NCBI, которая также описана в Фигуре 30А

10 [SEQ ID NO:140] аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека 11B7, которая также описана в Фигуре 30В и которая идентична аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислот No. 1-108 #11B7-химерной легкой цепи (SEQ ID NO:135)

15 [SEQ ID NO:141] аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека 11B7, которая также описана в Фигуре 30С и которая идентична аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислот No. 1-113 #11B7-химерной тяжелой цепи (SEQ ID NO:136)

[SEQ ID NO:142] аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека 11D5, которая также описана в Фигуре 30D и которая идентична аминокислотной последовательности,  
 20 состоящей из аминокислот No. 1-108 #11D5-химерной легкой цепи (SEQ ID NO:137)

[SEQ ID NO:143] аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи моноклонального антитела крысы против AXL человека 11D5, которая также описана в Фигуре 30Е и которая идентична аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислот No. 1-113 #11D5-химерной тяжелой цепи (SEQ ID NO:138)

25 [SEQ ID NO:144] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HB7-T15L, сигнальную последовательности (1-60), вариабельный участок (61-387), константный участок (388-702)

[SEQ ID NO:145] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HB7-T18L, сигнальную последовательности (1-60), вариабельный  
 30 участок (61-387), константный участок (388-702)

[SEQ ID NO:146] аминокислотная последовательность h#HB7-T15L, сигнальная последовательность (1-20), вариабельный участок (21-129), константный участок (130-234)

35 [SEQ ID NO:147] аминокислотная последовательность h#HB7-T18L, сигнальная последовательность (1-20), вариабельный участок (21-129), константный участок (130-234)

[SEQ ID NO:148] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HB7-T11H, сигнальную последовательности (1-57), вариабельный участок (58-396), константный участок (397-1386)

40 [SEQ ID NO:149] нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность h#HB7-T12H, сигнальную последовательности (1-57), вариабельный участок (58-396), константный участок (397-1386)

[SEQ ID NO:150] аминокислотная последовательность h#11B7-T11H, сигнальная последовательности (1-19), вариабельный участок (20-132), константный участок (133-462)  
 45 462)

[SEQ ID NO:151] аминокислотная последовательность h#HB7-T12H, сигнальная последовательности (1-19), вариабельный участок (20-132), константный участок (133-462)

## Примеры

Пример 1. Получение сверхэкспрессирующих AXL фибробластов RatI в качестве иммуногена

Полноразмерная кодирующая последовательность рецепторной тирозинкиназы AXL человека, вариант транскрипта 1 согласно контрольной последовательности (NM\_021913) базы National Center for Biotechnology Information (NCBI), была субклонирована в pLXSN через фланкирующие элементы, которые узнаются эндонуклеазами рестрикции EcoRI и BamHI, в результате чего был создан ретровирусный экспрессионный вектор pLXSN-hAXL.

Для получения антител, которые специфически связываются с рецепторной тирозиновой киназой AXL человека, с помощью ретровирусного переноса гена были получены фибробласты RatI, стабильно сверхэкспрессирующие AXL человека. Вкратце,  $3 \times 10^5$  клеток Phoenix-E было посеяно на 60 мм чашки Петри и трансфецировано 2 мкг/мл вектора pLXSN или pLXSN-hAXL с использованием кальций-фосфатного метода. Через 24 часа среда была заменена свежей средой, в которой клетки Phoenix-E инкубировались в течение 4 часов. Супернатанты клеток Phoenix-E, высвобождающих pLXSN или pLXSN-hAXL экотрофный вирус, собирались и использовались для инкубации субконфлуентных клеток RatI ( $2 \times 10^5$  клеток на 6 см чашку Петри) в течение 3 часов в присутствии Polybrene (4 мг/мл, Aldrich). Одновременно с этим клетки Phoenix-E были ре-инкубированы в свежей среде, которая через следующие 3 часа была использована для второго инфицирования фибробластов RatI в присутствии Polybrene (4 мг/мл, Aldrich). Подобным образом был проведен третий цикл инфицирования. После смены среды начинали селекцию клеток RatI с помощью G418. Как правило, стабильные клоны отбирались после селекции в течение 21 дня.

Была создана панель стабильных клонов, в которых была проведена количественная оценка экспрессии локализованного в мембране AXL человека с помощью анализа FACS. Более конкретно, с помощью 10 mM ЭДТА в PBS было собрано  $1 \times 10^5$  клеток, клетки промывали один раз буфером FACS (PBS, 3% FCS, 0,4% азида) и высевали в круглодонный 96-луночный планшет. Клетки осаждали центрифугированием в течение 3 минут при 1000 об/мин для удаления супернатанта и ресуспендировали с первичным антителом мыши против AXL MAB154 (R&D Systems, 3 мкг/мл). Суспензии клеток инкубировали на льду в течение 1 часа, дважды промывали буфером FACS и ресуспендировали в растворе (по 100 мкл/луночку) PE-конъюгированных анти-мышинных вторичных антител осли (Jackson), разведенных 1:50 в буфере FACS. Суспензии клеток инкубировали на льду и в темноте в течение 30 минут, дважды промывали буфером FACS и исследовали с помощью проточного цитометра Epics XL-MCL (Beckman Coulter).

Фигура 15A показывает результаты анализа FACS моноклональной популяции RatI-Mock, стабильно инфицированной пустым вектором pLXSN, и RatI-AXL c1.2, стабильно инфицированной pLXSN-hAXL, и демонстрирует сверхэкспрессию AXL на клеточной поверхности этого репрезентативного клона.

Кроме того, чтобы создать пригодную клеточную модельную систему для экспериментальных задач, фибробласты NIH3T3, стабильно сверхэкспрессирующие AXL, были получены способом, аналогичным описанному для RatI. Вкратце,  $3 \times 10^5$  клеток Phoenix-E было посеяно на 60 мм чашки Петри и трансфецировано 2 мкг/мл вектора pLXSN или pLXSN-hAXL кДНК с использованием кальций-фосфатного метода. Через 24 часа среда была заменена свежей средой, в которой клетки Phoenix-E инкубировались в течение 4 часов. Супернатанты клеток Phoenix-E, высвобождающих

pLXSN или pLXSN-hAXL экотрофный вирус, собирались и использовались для инкубации субконфлуентных клеток NIH3T3 ( $2 \times 10^5$  клеток на 6 см чашку Петри) в течение 3 часов в присутствии Polybrene (4 мг/мл, Aldrich). Одновременно с этим клетки Phoenix-E были ре-инкубированы в свежей среде, которая через следующие 3 часа была использована для второго инфицирования фибробластов NIH3T3 в присутствии Polybrene (4 мг/мл, Aldrich). Подобным образом был проведен третий цикл инфицирования. После смены среды начинали селекцию клеток NIH3T3 с помощью G418. Как правило, стабильные клоны отбирались после селекции в течение 21 дня.

Была создана панель стабильных клонов, в которых была проведена количественная оценка экспрессии локализованного в мембране AXL человека с помощью анализа FACS. Более конкретно, с помощью 10 mM ЭДТА в PBS было собрано  $1 \times 10^5$  клеток, клетки один раз промывали буфером FACS (PBS, 3% FCS, 0,4% азида) и высевали в круглодонный 96-луночный планшет. Клетки осаждали центрифугированием в течение 3 минут при 1000 об/мин для удаления супернатанта и ресуспендировали с первичным антителом мыши MAB154 (R&D Systems, 3 мкг/мл) против AXL. Суспензию клеток инкубировали на льду в течение 1 часа, дважды промывали буфером FACS и ресуспендировали (по 100 мкл/луночку) в растворе PE-конъюгированных анти-мышинных вторичных антител ослы (Jackson), разведенных 1:50 в буфере FACS. Суспензии клеток инкубировали на льду и в темноте в течение 30 минут, дважды промывали буфером FACS и исследовали с помощью проточного цитометра Epics XL-MCL (Beckman Coulter).

Фигура 15B показывает результаты анализа FACS поликлональной популяции NIH3T3-Mock, стабильно инфицированной пустым вектором pLXSN, и NIH3T3-AXL c1.7, стабильно инфицированной pLXSN-hAXL, и демонстрирует сверхэкспрессию AXL на клеточной поверхности этого репрезентативного клона.

#### Пример 2. Получение моноклональных антител крысы против AXL

Моноклональные антитела крысы против AXL были получены путем инъекции примерно  $10 \times 10^6$  замороженных клеток Rat1-AXL c1.2 как внутривенно, так и подкожно крысам Lou/C или Long Evans. После интервала в 8 недель была сделана конечная бустер-инъекция внутривенно и подкожно за 3 дня перед слиянием клеток. Слияние клеточной линии миеломы P3X63-Ag8.653 с иммунными клетками селезенки крыс было проведено согласно стандартной процедуре, в результате чего было получено 105 гибридом. Через 2 недели были собраны первые супернатанты от гибридом, которые проанализировали первичным методом FACS на связывание с фибробластами NIH3T3-AXL c1.7 по сравнению с контрольными клетками NIH3T3-Mock. Клоны, положительные по связыванию AXL, культивировались далее. Из 50 мл супернатанта от этих клонов были очищены антитела и был проведен повторный анализ на специфическое связывание с AXL на фибробластах NIH3T3-AXL c1.7 по сравнению с контрольными клетками NIH3T3-Mock. Очищенные антитела, специфически связывающиеся с фибробластами NIH3T3-AXL c1.7, но не с контрольными клетками NIH3T3-Mock, были дополнительно протестированы на [их влияние] на фосфорилирование Akt-киназы методом ELISA, и был проведен анализ ELISA для определения [их] изотипа. Для очистки антител крысы супернатант центрифугировали 20 минут при  $5000 \times g$ , после чего проводили стерильную фильтрацию. Добавляли 500 мкл протеин G-Сефарозы FF и инкубировали при  $4^\circ\text{C}$  в течение, по меньшей мере, 1 часа в центрифужных стаканах. Сефарозу осаждали центрифугированием, супернатант выливали, а матрицу с белком G дважды промывали PBS перед проведением элюции белка, используя цитратный буфер (100 mM) с pH 2,1. Элюируемые фракции немедленно

забуферивались до нейтральных pH добавлением 1 М Tris pH 8,0 и диализовались против PBS.

Из протестированных олигоклональных антител 91 антитело специфически связывалось с фибробластами NIH3T3-AXL c1.7 и не связывалось с контрольными клетками NIH3T3-Mock, 9 ингибировало Gas6-индуцируемое фосфорилирование Akt в тех же самых клетках, тогда как 71 стимулировало фосфорилирование Akt. Четыре антагонистических антитела (I11B7, I10D12, I6E7 и III1D5, в следующих Примерах обозначаются как 11B7, 10D12, 6E7 и 11D5 соответственно) два антагонистических антитела (в следующих Примерах обозначаются как I11D7 и III2A1) и одно контрольное антитело (III1D5; в следующих Примерах обозначается как 1D5) были крио-консервированы и субклонированы.

Пример 3: Структура и свойства антител против AXL

3.1. Нуклеотидные последовательности переменных доменов антитела крысы

Переменные домены антитела крысы против AXL были клонированы из гибридомных клеток. РНК получали с использованием набора RNA-Extraction kit RNeasy (RNeasy midi-kit, Qiagen). кДНК, кодирующая гены антитела, была получена с использованием набора 5'RACE kit (Invitrogen) согласно инструкции производителя.

Вкратце, одноцепочечная кДНК была синтезирована на матрице общей РНК с использованием ген-специфичных праймеров GSP1 и обратной транскриптазы Superscript™ II. После синтеза первой цепи кДНК исходная матрица мРНК удалялась обработкой РНКазой (RNase Mix). После этого к 3'-концу кДНК присоединялся гомополимерный хвост. ПЦР-амплификация проводилась с использованием Taq ДНК-полимеразы, гнездового ген-специфичного праймера (GSP2), который отжигается по участку, расположенному внутри молекулы кДНК, и якорного праймера, предоставленных в наборе. После амплификации 5' RACE продукты были клонированы в вектор pLXSN-ESK для секвенирования. Для облегчения клонирования якорный праймер (AP) включал последовательность для узнавания Sal I, праймеры GSP2 содержали сайт для XhoI.

GSP1 праймер:

каппа \_GSP1: GATGGATGCATTGGTGCAGC

новый\_каппа\_GSP1: atagatacagttggtgcagc

тяжелый\_GSP1: CAGGGTCACCATGGAGTTA

GSP2 Праймер:

XhoI-hGSP2: CCGCTCGAGCGGGCCAGTGGATAGACAGATGG

XhoI-kGSP2: CCGCTCGAGCGGCCGTTTTCAGCTCCAGCTTGG

Применение праймеров GSP для клонирования Mab крысы против AXL:

11B7: каппа GSP1; XhoI-kGSP2

тяжелый GSP1; XhoI-hGSP2

10D12: каппа\_GSP1, новый\_каппа\_GSP1; XhoI-kGSP2

тяжелый GSP1; XhoI-hGSP2

11D5: новый\_каппа\_GSP1; XhoI-kGSP2

тяжелый GSP1; XhoI-hGSP2

3.2. Аминокислотная последовательность переменных доменов антитела крысы против AXL

Последовательности переменных доменов антитела крысы были транслированы с секвенированных генов, клонированных в векторы pLXSN-ESK. Данные аминокислотные последовательности начинаются с положения один переменного домена. Гипервариабельные участки (CDRs), необходимые для специфического

связывания антитела с его мишенью, определяли согласно методу Kabat (Rabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition. NIH Publication No. 91-3242, 1991). Определение по методу Kabat основывается на вариабельности последовательности внутри вариабельных доменов. Специфические CDR участки антител против AXL приведены на Фигуре 14 и в последовательностях от SEQ ID NO: 121 до SEQ ID NO:132. Индивидуальные CDRs включают следующие положения:

CDR-L1: 24-34 CDR-L2: 50-56 CDR-L3: 89-97

CDR-H1: 31-35b CDR-H2: 50-65 CDR-H3: 95-102

Аминокислотные последовательности вариабельных участков легкой и тяжелой цепей антитела крысы 11B7 представлены последовательностями SEQ ID NOs: 140 и 141 соответственно. Подклассы легкой и тяжелой цепей антитела крысы 11B7 представляют собой каппа и IgG1 соответственно.

Аминокислотные последовательности вариабельных участков легкой и тяжелой цепей антитела крысы 11D5 представлены последовательностями SEQ ID NOs: 142 и 143 соответственно. Подклассы легкой и тяжелой цепей антитела крысы 11D5 представляют собой каппа и IgG2a соответственно.

### 3.3 Экспрессия и очистка антитела крысы:

Гибридомы культивировали в биореакторах Celine CL 1000 (Integra Biosciences) при 37°C, 5-7% CO<sub>2</sub> с использованием среды DMEM, включающей 4,5 г/л глюкозы, 1% глутамина, 1% пирувата, 1% смеси пенициллин/стрептомицин. Добавка фетальной сыворотки теленка (FCS) составляла 1% для питательного отсека и 5% FCS с низким содержанием IgG для клеточного отсека. Сбор и замену среды проводили два раза в неделю. Разделение клеток проводили в отношении 1/1 -> 1/3 в зависимости от их роста. Продуктивность определяли один раз в неделю с помощью SDS-электрофореза в ПААГ. Супернатанты хранили при -20°C до стадии очистки. Тест на микоплазму в растущих культурах проводили один раз в неделю.

Антитела очищали на Протеин А или G Сефарозе FF (GE-Healthcare) с использованием системы Äkta Explorer 100 System (GE-Healthcare). Для каждой очистки колонки набивали индивидуально. Размер колонки подбирался в соответствии с ожидаемой продуктивностью и размером каждой партии (обычно 50-500 мг). Содержащие белок растворы держали на льду или при 4°C везде, где это было возможно. На всех стадиях процесса использовались стерильные буферные растворы и бидистиллированная вода.

Супернатанты размораживали, забуферивали добавлением 50 мМ Трис, pH 8,5, центрифугировали, фильтровали через мембраны с размером пор 0,22 мкм и наносили на колонку. После промывания 8 объемами колонки (CV) 50 мМ P04, pH 8,5, антитело элюировали 10 CV 100 мМ глицина, pH 3,3. Фракции элюата немедленно забуферивали до нейтральных значений pH добавлением 1/5 объема 1 М Трис, pH 8,0 (1 мл Триса на 4 мл фракции элюата), после чего анализировали rSDS-электрофорезом в ПААГ. Собирали фракции, содержащие чистое антитело, диализовали их против PBS при 4°C и стерилизовали фильтрацией.

Требования к буферным системам подбирали согласно индивидуальным свойствам каждого антитела. В частности, антитело IgG2a крысы 11D5 связывали с матрицей Протеин G 4 FF (GE-Healthcare) и смывали высокими концентрациями соли (2М NaCl). Антитело IgG1 крысы 11B7 очищали на матрице Протеин А (rProtein A, GE-Healthcare) и смывали высокими концентрациями соли, как и 11D5. Элюцию антитела проводили при pH 5,5. Для повышения эффективности связывания при очистке антител крысы необходимо поддерживать низкую скорость потока.

В качестве второй стадии очистки можно использовать либо ионообменную

хроматографию (с индивидуальным подбором подходящих условий), либо препаративную хроматографию в исключенном объеме (PBS, pH 7,4).

Стандартный протокол для контроля качества очищенных антител включает:

Анализ с помощью rSDS-электрофореза в ПААГ, прокрашивание Кумасси или серебром

Тест BCA (Pierce #23227 BCA Protein Assay Kit; стандарт IgG крысы #31233)

Аналитическая эксклюзионная хроматография (Superdex 200 Tricom 10/300 GL, ~250 мг в 250 мкл; 0,5 мл/мин, Äkta Explorer 100)

Тест на эндотоксины (LAL, Cambrex QCL-1000® Chromogenic LAL Endpoint Assay # US50-648U)

Анализ активности на основе клеток (связывание FACS; pAkt; pAXL)

Очищенные антитела хранили в PBS, pH 7,4, в стерильных условиях при 4°C или -20°C в зависимости от их стабильности.

Одно из полученных антител крысы, 11B7, применялось в Примерах 5, 6 и 16.

### 3.4. Определение сродства антитела по графику Скетчарда FACS

Клетки NIH3T3, сверхэкспрессирующие AXL человека, собирали инкубацией в 10 mM ЭДТА в PBS и ресуспендировали по 6 миллионов клеток на 1 мл в буфере FACS (PBS, pH 7,4, 3% FCS, 0,1% NaN<sub>3</sub>). По 100 мкл клеточной суспензии добавляли в лунки круглодонного планшета для микротитрования к 100 мкл раствора антител, содержащего антитела 11B7, 11D5, ch11B7-IgG1, ch11B7-IgG2, ch11D5-IgG1 или ch11D5-IgG2 в концентрациях между 40 и 0,002 мкг/мл (266 и 0,01 нМ) в буфере FACS.

Связывание антител проводили в течение 2 часов на льду. После этого клетки дважды промывали 250 мкл буфера FACS на лунку и ресуспендировали в 200 мкл вторичного антитела (анти-крысиное-PE; Jackson), разведенного 1:50 в буфере FACS. Через 45 минут инкубации клетки снова дважды промывали буфером FACS и ресуспендировали в 500 мкл PBS для анализа FACS. Анализ проводили на приборе Beckman-Coulter FACS FC500. Для определения кажущейся константы сродства KDapp средние значения флуоресценции откладывали на графике против отношения средней флуоресценции и соответствующей концентрации антитела ([M]). Рассчитанные по обратному наклону прямой на графике значения KDapp представлены ниже:

| Клон        | Значение KD (нМ) |
|-------------|------------------|
| 11B7        | 0,38             |
| ch11B7-IgG1 | 0,6              |
| 11D5        | 0,81             |
| Ch11D5-IgG1 | 0,4              |

Представленные выше значения KD включают таковые химерных антител, полученных в Примере 4.

Пример 4: Химеризация антител крысы против AXL:

Гены легкой цепи и тяжелой цепи каппа IgG1/2 человека были клонированы из мононуклеарных клеток (PBMC) периферической крови людей-добровольцев, как описано ниже.

Клетки PBMC выделяли из цельной крови. Кровь разводили в соотношении 1/2,5 в PBS/ 2 mM ЭДТА с 10 ед./мл гепарина при комнатной температуре, наслаивали поверх 15 мл раствора Biocoll, покрытого диафрагмой (35 мл/центрифужную пробирку) [Biocoll от Biochrom # L6115]. Образцы центрифугировали при комнатной температуре в течение 30 мин при 400xg и удаляли сыворотку (-15 мл). Промежуточный слой, содержащий клетки PBMC, осторожно собирали Пастеровской пипеткой. Клетки PBMC промывали два раза в PBS/2 mM ЭДТА (первая промывка в 100 мл, вторая промывка в 50 мл) и



осаждали центрифугированием при  $300 \times g$  в течение 10 мин. Осадок клеток ресуспендировали в RPMI/10% FCS (25 мл) с выходом  $5,5 \times 10^7$  клеток PBMC.

РНК из PBMC выделяли с использованием набора RNeasy kit от Qiagen (# 75142) согласно инструкции производителя. Очищенную РНК (30 мкг) хранили в аликвотах при  $-80^\circ\text{C}$ .

кДНК для антитела IgG гамма 1 и 2 и для каппа цепей были получены из выделенной РНК с помощью РТ-ПЦР с использованием набора Superscript III Reverse Transcriptase (Invitrogen # 18080-93) согласно инструкциям производителя с применением следующих праймеров:

- 1) RT-гамма: GCG TGT AGT GGT TGT GCA GAG
- 2) КТ-гамма2: ggg ctt gee ggc cgt g
- 3) RT-каппа: TGG AAC TGA GGA GCA GOT GG
- 4) 5'Blp: AGA TAA GCT TTG CTC AGC GTC CAC CAA GGG CCC ATC GGT
- 5) 3'Bam(GAG): AGA TGG ATC CTC ATT TAC CCG GAG ACA GGG AGA G
- 6) 5'Bsi: AGA TAA GCT TCG TAC GGT GGC TGC ACC ATC TGT CTT CAT
- 7) 3'Bam(CTT): AGA TGG ATC CCT AAC ACT CTC CCC TGT TGA AGC TCT

Праймеры растворяли до концентрации 100 мкМ. Реакции РТ-ПЦР проводили с использованием 2 пмоль олиго RT $\gamma$  и RT $\kappa$  соответственно с добавлением 1 мкг РНК, 10 мМ смеси дНТФ при нагревании в течение 5 минут до  $65^\circ\text{C}$ . Было добавлено 4 мкл буфера для первой цепи, 1 мкл 0,1 М ДТТ, 1 мкл ингибитора РНКазы (40 ед./мкл Fermentas # E00311) и 2 мкл Superscript III RT, смесь была перемешана и нагревалась при  $50^\circ\text{C}$  в течение 1 часа, после чего следовала стадия термоинактивации в течение 15 минут при  $70^\circ\text{C}$ .

Для второй стадии ПЦР брали 2 мкл реакционной смеси первой цепи и использовали Taq-полимеразу (Eurochrom # ЕМЕО 10001) для получения двухцепочечной ДНК константных доменов антител. Для амплификации константных участков  $\gamma$ -цепи использовали праймеры 5'Blp и 3'Bam(GAG) и для амплификации константных участков  $\kappa$ -цепи использовали праймеры 5'Bsi и 3'Bat(CTT), проводя ПЦР в следующем режиме:

амплификация  $\kappa$ -цепи:

|      |                  |
|------|------------------|
| 94°C | 120 сек          |
| 94°C | 30 сек           |
| 55°C | 30 сек           |
| 72°C | 45 сек 35 циклов |
| 72°C | 10 мин           |

амплификация  $\gamma$ -цепи:

|      |                  |
|------|------------------|
| 94°C | 120 сек          |
| 94°C | 30 сек           |
| 45°C | 30 сек           |
| 72°C | 60 сек 5 циклов  |
| 94°C | 30 сек           |
| 50°C | 30 сек           |
| 72°C | 60 сек 35 циклов |
| 72°C | 10 мин           |

Продукты ПЦП анализировали в 2% агарозном геле в буфере ТАЕ. Была обнаружена одна полоса размером ~350 п.о. для легкой цепи каппа и одна полоса размером ~ 1000 п.о. для тяжелых цепей  $\gamma 1$  и  $\gamma 2$ . Продукты ПЦР очищали с использованием Qiagen gel extraction kit, (QIAGEN, #28784) согласно инструкциям производителя. Для клонирования фрагментов ПЦР по множественным сайтам полилинкера вектора pcDNA3 (Invitrogen),

вектор pcDNA3 и фрагменты ПЦР расщепляли эндонуклеазами рестрикции HindIII (5') и BamHI (3'). Сайты рестрикции входили в состав праймеров для ПЦР. Расщепленные фрагменты были очищены с использованием Qiagen PCR purification kit (QIAGEN, 28104), и ДНК, кодирующая  $\gamma 1$ ,  $\gamma 2$  и  $\kappa$  цепи, была лигирована в вектор pcDNA3 с помощью T4 ДНК-лигазы при 16°C в течение ночи. Лигазу инактивировали нагреванием в течение 10 минут при 65°C. Лигированные плазмидные ДНК были непосредственно трансформированы в CaCl<sub>2</sub>-компетентные E.coli с использованием стандартного протокола, которые высевали на LB-чашки, содержащие Ампициллин. После инкубации при 37°C в течение ночи собирали одиночные колонии, суспендировали их в 10 мкл H<sub>2</sub>O и проверяли на содержание плазмид, несущих соответствующую цепь антитела с помощью ПЦР (5 мкл суспензии клеток, Taq-полимераза, праймеры 5B1p и 3Bam(GAG) для колоний  $\gamma 1/\gamma 2$  и 5Bsi и 3Bam(СТТ) для колоний  $\kappa$ :

|      |                  |
|------|------------------|
| 94°C | 120 сек          |
| 94°C | 30 сек           |
| 55°C | 30 сек           |
| 72°C | 60 сек 35 циклов |
| 72°C | 10 мин           |

Образцы анализировали в 1,5% агарозном геле на содержание ПЦР-продуктов. Колонии, содержащие гены антител, были отобраны и инокулированы в 5 мл среды LB/Ампициллин. После инкубации при 37°C в течение ночи E.coli были собраны и из них была получена ДНК с использованием набора Qiagen miniprep kit (QIAGEN, # 12123). Контрольное расщепление (HindIII, BamHI) показало наличие вставки всех генов  $\kappa$  и  $\gamma$  цепей ожидаемого размера; правильность последовательностей была подтверждена секвенированием ДНК на Medigenomix.

Вариабельные домены крысы были амплифицированы с помощью ПЦР из вектора pLXSN-ESK и клонированы в векторы g1/g2 и  $\kappa$  pcDNA3 для получения химерных полноразмерных антител. Вариабельные VL домены были амплифицированы с использованием следующих праймеров, содержащих сайт HindIII и BsmI на 5'-конце и сайт BsiWI на 3'-конце:

VL-11B7-5': AGA TAA GCT TGT GCA TTC CGA CAT CCA GAT GAC CCA GGC TCC

VL-11B7-3': AGA TCG TAC GTT TCA GCT CCA GCT TGG TGC CTC

VL-11D5-5': AGA TAA GCT TGT GCA TTC CGA CAT CCA GAT GAC CCA GTC TCC ATC

VL-11D5-3': AGA TCG TAC GTT TCA GCT TGG TCC CAG

Вариабельные VH домены были амплифицированы с использованием следующих праймеров, содержащих сайт HindIII и BsmI на 5'-конце и сайт B1pI на 3'-конце:

VH-11B7/11D5-5': AGA TAA GCT TGT GCA TTC CGA GGT GCA GCT TCA GGA GTC AGG

VH-11B7/11D5-3': AGA TGC TGA GCT GAC AGT GAC CAT GAC TCC TTG GCC

Сайты BsiWI для легкой цепи и B1pI для тяжелой цепи являются единственными сайтами на 5'-конце константных участков для того, чтобы обеспечить прямое слияние с 3'-концом генов вариабельных доменов.

Гены, кодирующие цепи химерных антител, слитые с лидерной последовательностью SEQ ID No. : 133, полученной из вектора pLNOH2 (Norderhaug et. al. J. Immunol. Methods 204, 1997; Neuberger EMBO J. 1983; 2 (8): 1373-8, 1983), были клонированы в векторную систему pCER для рекомбинантной экспрессии. Гены легких цепей были клонированы с помощью NheI (5') и XhoI (3') в pCER4 (Invitrogen), гены тяжелых цепей были

клонированы с помощью KpnI (5') и XhoI (3') в pCEP-Pu (Kohfeld FEBS Vol 414; (3) 557ff, 1997).

Клетки НЕК 293 высевали на чашки размером 20×20 см и котрансфецировали 1 мг/мл каждой плазмиды, кодирующей гены легкой и тяжелой цепей, с использованием стандартного метода трансфекции с CaPO<sub>4</sub> для промежуточной экспрессии.

Культивирование проводили при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в среде DMEM/F12 с высоким содержанием глюкозы, содержащей 5% FCS с пониженным уровнем IgG, 1% пирувата, 1% глутамина, 1% смеси пенициллин/стрептомицин. Через 24 часа после трансфекции среда заменялась свежей средой. Супернатанты собирали каждые 2-3 дня в течение примерно 3 недель. Химерные антитела очищали из примерно 600 мл супернатанта с применением 1 мл колонок Hitrap rProtein A (GE-Healthcare) в стандартных условиях забуферивания (нанесение: 50 мМ Трис, pH 8,5, промывка: 50 мМ PO<sub>4</sub>; pH=8,5, элюция: 100 мМ глицин; pH 3,3), как это описано для очистки антител крысы.

Одна из полученных химерных молекул, происходящих из антитела 11B7 крысы, состояла из тяжелой цепи IgG1 человека, представленной аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:136 (Фигура 14) и каппа легкой цепи человека, представленной аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:135 (Фигура 14).

Одна из полученных химерных молекул, происходящих из антитела 11D5 крысы, состояла из тяжелой цепи IgG1 человека, представленной аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:138 (Фигура 14) и каппа легкой цепи человека, представленной аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:137 (Фигура 14).

Эти химерные антитела 11B7 и 11D5, обозначенные как ch11B7-IgG1 и ch11D5-IgG1 соответственно, были использованы в Примерах 3, 13, 14 и 17-20.

Пример 5. Антитела крысы против AXL настоящего изобретения снижают рост карциномы простаты человека у безтимусных мышей

Противоопухолевая эффективность терапевтических антител часто оценивается в исследованиях ксенотрансплантатов опухолей человека. В этих модельных системах опухоли человека растут в виде ксенотрансплантатов в мышцах с ослабленным иммунитетом, и терапевтическая эффективность измеряется по степени ингибирования роста опухоли. Целью настоящего исследования была оценка того, является ли антитело крысы 11B7 против AXL настоящего изобретения антагонистом роста опухоли клеток рака простаты человека в безтимусных мышцах. Вкратце, в день 0 самцов мышей линии NMRI<sup>nu/nu</sup> возрастом 7-8 недель (примерный вес 30 г после акклиматизации)

анестезировали 1,5-2,0 объемными процентами изофлурана при скорости тока кислорода 2 л/мин и ортотопически имплантировали им в простату 1×10<sup>6</sup> клеток PC-3-LN в 25 мкл PBS. Клетки PC-3-LN были получены из клеточной линии карциномы простаты PC-3, которая была инфицирована ретровирусом, кодирующим слитый белок люцифераза-неомицин. Таким образом, начало роста опухоли и развитие опухоли можно было анализировать *in vivo* путем анализа биolumинесценции. Для этой цели мышам внутрибрюшинно вводили люциферин и через 10 минут после инъекции измеряли испускание света с помощью прибора NightOWL LB 981 bioluminescence imaging system (Berthold Technologies, Germany). Перед началом лечения мышей разделяли случайным образом на группы и проводили статистический анализ для подтверждения однородности исходных размеров опухолей (среднее значение, медиана и стандартное отклонение) во всех обрабатываемых группах по 10 мышей в каждой. В день 8 начинали все обработки и продолжали их до дня 34, после чего в день 35 проводили вскрытие. Животным в группах 1 и 2 внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг 3 раза в неделю

(понедельник, среда, пятница) вводили изотопическое контрольное антитело 1D5 и антагонистическое антитело крысы 11B7 против AXL соответственно. Животные в группе 3 перорально получали 40 мг/кг Сутента 1 раз в день. Животным в группе 4 внутривенно вводили три инъекции 12,5 мг/кг Таксотера с перерывом в 4 дня между инъекциями. Обзор всех групп, получавших обработку, приведен ниже.

Фигура 16 показывает результаты этого эксперимента. По сравнению с изотипным контрольным антителом 1D5 антагонистическое антитело крысы 11B7 против AXL настоящего изобретения снижало общий рост опухолей простаты PC-3-LN у безтимусных мышей.

Пример 6. Антитела крысы против AXL настоящего изобретения ингибируют метастазирование карциномы простаты человека

В эксперименте, аналогичном тому, который описан в Примере «Антитела крысы против AXL настоящего изобретения снижают рост карциномы простаты человека у безтимусных мышей», после вскрытия было проанализировано переселение опухолевых клеток PC-3-LN в другие органы (метастазирование) для оценки анти-метастатических эффектов антагонистического антитела крысы 11B7 против AXL настоящего изобретения. Для этой цели после вскрытия были взяты некоторые органы (печень, селезенка, легкие, бедренная кость, часть поясничного отдела позвоночника), гомогенизированы, и в гомогенат был введен люциферин. После этого измеряли испускание света с помощью прибора NightOWL LB 981 bioluminescence imaging system (Berthold Technologies, Germany).

Фигура 17 показывает результаты этого эксперимента, полученные при анализе селезенки. По сравнению с изотипным контрольным антителом 1D5 антагонистическое антитело крысы 11B7 против AXL настоящего изобретения снижало появление метастазов в селезенке. Необходимо отметить, что анти-метастатический эффект 11B7 в этом эксперименте был более сильным, чем таковой Сутента. Аналогичные наблюдения были получены для метастазов в печени, легких, бедренной кости и поясничном отделе позвоночника.

Пример 7: Дизайн гуманизированного антитела

7.1 Дизайн гуманизированной версии #11B7

7.1.1 Молекулярное моделирование переменных доменов #11B7

Молекулярное моделирование переменных доменов #11B7 было проведено согласно методу, обычно известному в данной области техники как метод моделирования по гомологии (Methods in Enzymology, 203, 121-153, (1991)). Первичные последовательности (доступны трехмерные структуры, полученные на основе рентгеноструктурного анализа кристаллических структур) переменных доменов иммуноглобулинов человека, зарегистрированные в базе данных по белкам Protein Data Bank (Nuc. Acid Res. 35, D301-D303 (2007)), сравнивали с полученными для переменных доменов #11B7. В результате был выбран 1JPT, как имеющий наивысшую гомологию последовательности с переменным доменом легкой цепи #11B7. Более того, был выбран 1F8T, как имеющий наивысшую гомологию последовательности с переменным доменом тяжелой цепи #11B7. Трехмерные структуры каркасных доменов были построены на основе «модели каркаса», полученной путем комбинирования координат для 1JPT и 1F8T, соответствующих легкой и тяжелой цепям #11B7. Для #11B7 CDRs, CDRL<sub>1</sub>, CDRL<sub>2</sub>, CDRL<sub>3</sub>, CDRH<sub>1</sub> и CDRH<sub>2</sub> были созданы кластеры 11A, 7A, 9A, 10A и 9A соответственно, согласно классификации Thomson et al. (J. Mol. Biol., 263, 800-815, (1996)). CDRHs был классифицирован как k (3) согласно H3-правилам (FEBS letters 399, 1-8 (1996)). После этого типичная конформация каждого CDR была включена в модель

каркаса.

Наконец, для получения возможных молекулярных моделей переменных доменов #11B7 в терминах энергии, был проведен расчет энергии для исключения невыгодного межато́много контакта. Эти расчеты были сделаны с использованием коммерчески доступной программы предсказания трехмерной структуры белков Prime и программы поиска координат MacroModel (Schrodinger, LLC).

#### 7.1.2 Дизайн аминокислотной последовательности гуманизированного антитела #11B7

Гуманизированные антитела #11B7 были сконструированы согласно методу, обычно известному в данной области техники как метод «прививки CDR» (CDR grafting) (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033 (1989)). Акцепторные антитела выбирались двумя способами на основе аминокислотной гомологии в пределах каркасных доменов.

Последовательности каркасных доменов #11B7 сравнивали с таковыми всех каркасных доменов человека, зарегистрированных в базе данных Kabat Database (Nuc. Acid Res. 29, 205-206 (2001)), содержащей аминокислотные последовательности антител. В результате в качестве акцептора было выбрано антитело GM4672'CL, с которым гомология между каркасными доменами составила 72%. Аминокислотные остатки каркасных доменов GM4672'CL выравнивались с соответствующими аминокислотными остатками в #11B7 для идентификации положений, в которых в них присутствуют разные аминокислоты. Положения этих остатков были проанализированы с помощью сконструированной трехмерной модели #11B7. После этого выбирали донорные остатки для введения их в акцептор согласно критерию, предоставленному Queen et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033 (1989)).

Последовательности каркасных доменов #11B7 сравнивали с таковыми всех каркасных доменов человека, зарегистрированных в базе данных IgBLAST (Nuc. Acid Res. 36, D25-D30 (2007)). В результате ВАС01582 была выбрана в качестве акцепторной L-цепи на основании 76% гомологии между их каркасными доменами. ААF80028 была выбрана в качестве акцепторной H-цепи на основании 66% гомологии между их каркасными доменами. Аминокислотные остатки каркасных доменов в ВАС01582 L-цепи и в ААF80028 H-цепи выравнивались с соответствующими аминокислотными остатками в #11B7 для идентификации положений, в которых в них присутствуют разные аминокислоты. Положения этих остатков были проанализированы с помощью сконструированной трехмерной модели #11B7. После этого выбирали донорные остатки для введения их в акцептор согласно критерию, предоставленному Queen et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033 (1989)).

Во всех методах гуманизированные последовательности #11B7 конструировали, как описано ниже в Примерах, путем переноса некоторых выбранных донорных остатков в акцепторные антитела.

#### 7.1.3 Гуманизация легкой цепи #11B7 (Фигуры 1, 2 и 3)

##### 7.1.3.1 Легкая цепь h#11B7-T1L-типа:

Гуманизированный переменный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 65 (серин), 66 (аргинин), 69 (серин), 71 (тирозин), 72 (серин), 73 (лейцин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) переменного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, тирозин, аланин, лизин, лейцин, треонин, глицин, треонин, фенилаланин, треонин, фенилаланин, глутамин,

пролин, фенилаланин, треонин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11B7-T1L-типа".

#### 7.1.3.2 Легкая цепь h#NB7-T2L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 43 (серин), 45 (аргинин), 65 (серин), 66 (аргинин), 69 (серин), 72 (серин), 73 (лейцин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, аланин, лизин, треонин, глицин, треонин, треонин, фенилаланин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11B7-T2L"-типа.

#### 7.1.3.3 Легкая цепь h#NB7-T3L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 43 (серин), 45 (аргинин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, аланин, лизин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11B7-T3L"-типа.

#### 7.1.3.4 Легкая цепь h#11B7-T4L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, тирозин, аланин, лизин, лейцин, глицин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#NB7-T4L"-типа.

#### 7.1.3.5 Легкая цепь h#NB7-T5L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO: 140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, аланин, лизин, глицин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#NB7-T5L"-типа.

#### 7.1.3.6 Легкая цепь h#11B7-T6L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ

ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, аланин, лизин, глицин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11B7-T6L"-типа.

5 7.1.3.7 Легкая цепь h#11B7-T7L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, тирозин, аланин, лизин, глицин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11B7-T7L"-типа.

15 7.1.3.8 Легкая цепь h#11B7-T8L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, аланин, лизин, лейцин, глицин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11B7-T8L"-типа.

25 7.1.3.9 Легкая цепь h#11B7-T9L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, аланин, лизин, глицин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11B7-T9L"-типа.

35 7.1.3.10 Легкая цепь h#11B7-T10L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, тирозин, аланин, лизин, лейцин, глицин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11B7-T10L"-типа.

45 7.1.3.11 Легкая цепь h#11B7-T11L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 43 (серии), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80

(серии), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, аланин, лизин, лейцин, глицин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11B7-T11L"-типа.

#### 7.1.3.12 Легкая цепь h#11B7-T12L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью in SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, тирозин, аланин, лизин, глицин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11B7-T12L"-типа.

#### 7.1.3.13 Легкая цепь h#11B7-T13L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 43 (серии), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, тирозин, аланин, лизин, лейцин, глицин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11B7-T13L"-типа.

#### 7.1.3.14 Легкая цепь h#11B7-T14L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 43 (серии), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, тирозин, аланин, лизин, глицин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11B7-T14L"-типа.

#### 7.1.3.15 Легкая цепь h#11B7-T15L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, аланин, лизин, лейцин, глицин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11B7-T15L"-типа.

#### 7.1.3.16 Легкая цепь h#11B7-T16L-типа:



Гуманизированный переменный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) 5  
 переменной области легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, аланин, лизин, глицин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как переменный участок легкой цепи "h#11B7-T16L"-типа.

#### 7.1.3.17 Легкая цепь h#11B7-T17L-типа:

Гуманизированный переменный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 106 (лейцин) и 109 15  
 (пролин) переменной области легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, тирозин, аланин, лизин, лейцин, глицин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как переменный участок легкой цепи "h#11B7-T17L"-типа.

#### 7.1.3.18 Легкая цепь h#11B7-T18L-типа:

Гуманизированный переменный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 106 (лейцин) и 109 25  
 (пролин) переменной области легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, аланин, лизин, лейцин, глицин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как переменный участок легкой цепи "h#11B7-T18L"-типа.

#### 7.1.3.19 Легкая цепь h#11B7-T19L-типа:

Гуманизированный переменный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 (глицин), 106 (лейцин) и 109 35  
 (пролин) переменной области легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ-ID NO: 140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, тирозин, аланин, лизин, глицин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как переменный участок легкой цепи "h#11B7-T19L"-типа.

#### 7.1.3.20 Легкая цепь h#11B7-T20L-типа:

Гуманизированный переменный участок легкой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№7 (аланин), 12 (пролин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (аспарагиновая кислота), 100 45  
 (глицин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) переменной области легкой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:140 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на серин, серин, валин, тирозин, аланин, лизин, лейцин, глицин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, изолейцин

и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11B7-T20L"-типа.

#### 7.1.4 Гуманизация тяжелой цепи #11B7 (Фигуры 4 и 5)

##### 7.1.4.1 Тяжелая цепь h#11B7-T1H-типа:

5 Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 2 (валин), 17 (серии), 23 (серии), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагиновая кислота), 44 (лизин), 45 (метионин), 48 (метионин), 67 (изолейцин), 68 (серин), 70 (треонин), 71 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (серин), 88 (глутаминовая кислота),  
10 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:141 Списка Последовательностей (Фигура 30С), на глутамин, изолейцин, треонин, аланин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, изолейцин, валин, треонин, серин, валин, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный  
15 участок тяжелой цепи "h#11B7-T1H"-типа.

##### 7.1.4.2 Тяжелая цепь h#11B7-T2H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 2 (валин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагиновая кислота), 44 (лизин), 45 (метионин), 70 (треонин), 71 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин),  
20 87 (серин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:141 Списка Последовательностей (Фигура 30С), на глутамин, изолейцин, треонин, аланин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, серин, валин, серин,  
25 лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11B7-T2H"-типа.

##### 7.1.4.3 Тяжелая цепь h#11B7-T3H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин),  
30 40 (фенилаланин), 44 (лизин), 45 (метионин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (серин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:141 Списка Последовательностей (Фигура 30С), на глутамин, треонин, аланин, серии, пролин, глицин, лейцин, серин, лизин, серин, аланин,  
35 аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11B7-T3H"-типа.

##### 7.1.4.4 Тяжелая цепь h#11B7-T4H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 6 (глутаминовая кислота), 7 (серии),  
40 9 (пролин), 12 (валин), 16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагиновая кислота), 44 (лизин), 45 (метионин), 48 (метионин), 67 (изолейцин), 68 (серин), 70 (треонин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (серин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11B7, представленной последовательностью  
45 SEQ ID NO:141 Списка Последовательностей (Фигура 30С), на глутамин, глутамин, триптофан, аланин, лейцин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, изолейцин, валин, треонин, серин, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и треонин соответственно, был обозначен как

вариабельный участок тяжелой цепи "h#11B7-T4H"-типа.

#### 7.1.4.5 Тяжелая цепь h#11B7-T5H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 6 (глутаминовая кислота), 7 (серин), 9 (пролин), 12 (валин), 16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагиновая кислота), 44 (лизин), 45 (метионин), 70 (треонин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (серин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:141 Списка Последовательностей (Фигура 30С), на глутамин, глутамин, триптофан, аланин, лейцин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, серин, серин, лизин, серии, аланин, аланин, валин, треонин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11B7-T5H"-типа.

#### 7.1.4.6 Тяжелая цепь h#11B7-T6H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 16 (глутамин), 17 (серии), 23 (серии), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагиновая кислота), 44 (лизин), 45 (метионин), 70 (треонин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (серин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:141 Списка Последовательностей (Фигура 30С), на глутамин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, серин, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11B7-T6H"-типа.

#### 7.1.4.7 Тяжелая цепь h#11B7-T7H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагиновая кислота), 44 (лизин), 45 (метионин), 48 (метионин), 67 (изолейцин), 70 (треонин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (серин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:141 Списка Последовательностей (Фигура 30С), на глутамин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, изолейцин, валин, серин, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11B7-T7H"-типа.

#### 7.1.4.8 Тяжелая цепь h#11B7-T8H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагиновая кислота), 44 (лизин), 45 (метионин), 68 (серин), 70 (треонин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (серии), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:141 Списка Последовательностей (Фигура 30С), на глутамин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, треонин, серии, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11B7-T8H"-типа.

#### 7.1.4.9 Тяжелая цепь h#11B7-T9H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серии), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагиновая кислота), 44 (лизин), 45 (метионин), 48 (метионин), 67 (изолейцин), 68 (серии), 70 (треонин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (серин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:141 Списка Последовательностей (Фигура 30С), на глутамин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, изолейцин, валин, треонин, серин, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11B7-T9H"-типа.

#### 7.1.4.10 Тяжелая цепь h#11B7-T10H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 6 (глутаминовая кислота), 7 (серин), 9 (пролин), 12 (валин), 16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагиновая кислота), 44 (лизин), 45 (метионин), 48 (метионин), 67 (изолейцин), 70 (треонин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (серин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:141 Списка Последовательностей (Фигура 30С), на глутамин, глутамин, триптофан, аланин, лейцин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, изолейцин, валин, серин, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11B7-T10H"-типа.

#### 7.1.4.11 Тяжелая цепь h#11B7-T11H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 6 (глутаминовая кислота), 7 (серин), 9 (пролин), 12 (валин), 16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагиновая кислота), 44 (лизин), 45 (метионин), 68 (серин), 70 (треонин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (серин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:141 Списка Последовательностей (Фигура 30С), на глутамин, глутамин, триптофан, аланин, лейцин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, треонин, серин, серин, лизин, серии, аланин, аланин, валин, треонин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11B7-T11H"-типа.

#### 7.1.4.12 Тяжелая цепь h#11B7-T12H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11B7, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 6 (глутаминовая кислота), 7 (серин), 9 (пролин), 12 (валин), 16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагиновая кислота), 44 (лизин), 45 (метионин), 48 (метионин), 67 (изолейцин), 68 (серин), 70 (треонин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (серин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11B7, представленной последовательностью SEQ ID NO:141 Списка Последовательностей (Фигура 30С), на глутамин, глутамин, триптофан, аланин, лейцин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, изолейцин, валин, треонин, серии, серин, лизин, серин,

аланин, аланин, валин, треонин и треонин соответственно, был обозначен как переменный участок тяжелой цепи "h#11B7-T12H"-типа.

## 7.2 Дизайн гуманизированной версии #11D5

### 7.2.1 Молекулярное моделирование переменных доменов #11D5

Молекулярное моделирование переменных доменов #11D5 было проведено согласно методу, обычно известному в данной области техники как метод моделирования по гомологии (Methods in Enzymology, 203, 121-153, (1991)). Первичные последовательности (доступны трехмерные структуры, полученные на основе рентгеноструктурного анализа кристаллических структур) переменных доменов иммуноглобулинов человека, зарегистрированные в базе данных по белкам Protein Data Bank (Nuc. Acid Res. 35, D301-D303 (2007)), сравнивали с полученными для переменных доменов #11D5. В результате был выбран 1D5I, как имеющий наивысшую гомологию последовательности с переменным доменом легкой цепи #11D5. Более того, был выбран 10RS, как имеющий наивысшую гомологию последовательности с переменным доменом тяжелой цепи #11D5. Трехмерные структуры каркасных доменов были построены на основе «модели каркаса», полученной путем комбинирования координат для 1D5I и 10RS, соответствующих легкой и тяжелой цепям #11D5. Для #11D5 CDRs, CDRL<sub>1</sub>, CDRL<sub>2</sub>, CDRL<sub>3</sub>, CDRH<sub>1</sub> и CDRH<sub>2</sub> были созданы кластеры 11A, 7A, 9A, 10A и 9A соответственно, согласно классификации Thomson et al. (J. Mol. Biol., 263, 800-815, (1996)). CDRH<sub>3</sub> был классифицирован как k (3) согласно H3-правилам (FEBS letters 399, 1-8 (1996)). После этого типичная конформация каждого CDR была включена в модель каркаса.

Наконец, для получения возможных молекулярных моделей переменных доменов #11D5 в терминах энергии, был проведен расчет энергии для исключения невыгодного межатомного контакта. Эти расчеты были сделаны с использованием коммерчески доступной программы предсказания трехмерной структуры белков Prime и программы поиска координат MacroModel (Schrodinger, LLC).

### 7.2.2 Дизайн аминокислотной последовательности гуманизированного антитела #11D5

Гуманизированные антитела #11D5 были сконструированы согласно методу, обычно известному в данной области техники как метод «прививки CDR» (CDR grafting) (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033 (1989)). Акцепторные антитела выбирались двумя способами на основе аминокислотной гомологии в пределах каркасных доменов.

Последовательности каркасных доменов #11D5 сравнивали с таковыми всех каркасных доменов человека, зарегистрированных в базе данных Kabat Database (Nuc. Acid Res. 29, 205-206 (2001)), содержащей аминокислотные последовательности антител. В результате в качестве акцептора было выбрано антитело T33-4'CL, гомология каркасных доменов с которым составила 70%. Аминокислотные остатки каркасных доменов T33-4'CL выравнивались с соответствующими аминокислотными остатками в #11D5 для идентификации положений, в которых присутствуют разные аминокислоты. Положения этих остатков были проанализированы с помощью сконструированной трехмерной модели #11D5. После этого выбирали донорные остатки для введения их в акцептор согласно критерию, предоставленному Queen et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033 (1989)).

Последовательности каркасных доменов #11D5 сравнивали с таковыми всех каркасных доменов человека, зарегистрированных в базе данных IgBLAST (Nuc. Acid Res. 36, D25-D30 (2007)). В результате 1603260B была выбрана в качестве акцепторной L-цепи на основании 74% гомологии между их каркасными доменами. AAF80028 была

выбрана в качестве акцепторной Н-цепи на основании 66% гомологии между их каркасными доменами. Аминокислотные остатки каркасных доменов в 1603260B L-цепи и в AAF80028 Н-цепи выравнивались с соответствующими аминокислотными остатками в #11D5 для идентификации положений, в которых в них присутствуют  
 5 разные аминокислоты. Положения этих остатков были проанализированы с помощью сконструированной трехмерной модели #11D5. После этого выбирали донорные остатки для введения их в акцептор согласно критерию, предоставленному Queen et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033 (1989)).

Во всех методах гуманизированные последовательности #11D5 конструировали, как  
 10 описано ниже в Примерах, путем переноса некоторых выбранных донорных остатков в акцепторные антитела.

### 7.2.3 Гуманизация легкой цепи #11D5 (Фигуры 6, 7, 8, 9, 10 и 11)

#### 7.2.3.1 Легкая цепь h#11D5-T1L-типа:

Гуманизированный переменный участок легкой цепи #11D5, созданный путем  
 15 замены аминокислот №№2 (изолейцин), 11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 46 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) переменного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO:142

Списка Последовательностей (Фигура 30D), на валин, лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, лизин, лейцин, лейцин, глицин, треонин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как переменный участок легкой цепи "h#11D5-T1L"-  
 20 типа.

#### 7.2.3.2 Легкая цепь h#11D5-T2L-типа:

Гуманизированный переменный участок легкой цепи #11D5, созданный путем  
 замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин), 46 (аргинин), 66 (аргинин), 69 (серин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) переменного  
 30 участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO:142

Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, лейцин, глицин, треонин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как переменный участок легкой цепи "h#11D5-T2L"-  
 35 типа.

#### 7.2.3.3 Легкая цепь h#11D5-T3L-типа:

Гуманизированный переменный участок легкой цепи #11D5, созданный путем  
 замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) переменного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ  
 40 ID NO:142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как переменный участок легкой цепи "h#11D5-T3L"-типа.

#### 7.2.3.4 Легкая цепь h#11D5-T4L-типа:

Гуманизированный переменный участок легкой цепи #11D5, созданный путем  
 45 замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 70 (аспарагиновая кислота), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин)

вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO:142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, лизин, лейцин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глицин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T4L"-типа.

#### 7.2.3.5 Легкая цепь h#11D5-T5L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин), 66 (аргинин), 69 (серин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO:142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, глицин, треонин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глицин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T5L"-типа.

#### 7.2.3.6 Легкая цепь h#11D5-T6L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин), 66 (аргинин), 69 (серин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO:142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, глицин, треонин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T6L"-типа.

#### 7.2.3.7 Легкая цепь h#11D5-T7L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 70 (аспарагиновая кислота), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO:142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, лизин, лейцин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T7L"-типа.

#### 7.2.3.8 Легкая цепь h#11D5-T8L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 70 (аспарагиновая кислота), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO:142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, лизин, лейцин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно,

был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T8L"-типа.

#### 7.2.3.9 Легкая цепь h#11D5-T9L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серии), 70 (аспарагиновая кислота), 71 (тирозин), 72 (серии), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серии), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO:142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, лейцин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T9L"-типа.

#### 7.2.3.10 Легкая цепь h#11DS-T10L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 69 (серии), 70 (аспарагиновая кислота), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO:142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, лизин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T10L"-типа.

#### 7.2.3.11 Легкая цепь h#11D5-T11L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO:142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, лизин, лейцин, глицин, треонин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи «h#11D5-T11L»-типа.

#### 7.2.3.12 Легкая цепь h#11D5-T12L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серии), 70 (аспарагиновая кислота), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO:142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, лизин, лейцин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T12L"-типа.

#### 7.2.3.13 Легкая цепь h#11D5-T13L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин),



47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 70 (аспарагиновая кислота), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) варибельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, лейцин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как варибельный участок легкой цепи "h#11D5-T13L"-типа.

#### 7.2.3.14 Легкая цепь h#11D5-T14L-типа:

Гуманизированный варибельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 69 (серин), 70 (аспарагиновая кислота), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серии), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) варибельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, лизин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как варибельный участок легкой цепи "h#11D5-T14L"-типа.

#### 7.2.3.15 Легкая цепь h#11D5-T15L-типа:

Гуманизированный варибельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серии), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) варибельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, лизин, лейцин, глицин, треонин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как варибельный участок легкой цепи "h#11D5-T15L"-типа.

#### 7.2.3.16 Легкая цепь h#11D5-T16L-типа:

Гуманизированный варибельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 70 (аспарагиновая кислота), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) варибельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, лизин, лейцин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как варибельный участок легкой цепи "h#11D5-T16L"-типа.

#### 7.2.3.17 Легкая цепь h#11D5-T17L-типа:

Гуманизированный варибельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 66 (аргинин), 69 (серин), 70 (аспарагиновая кислота), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) варибельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка

Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T17L"-типа.

#### 5 7.2.3.18 Легкая цепь h#11D5-T18L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, лейцин, глицин, треонин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T18L"-типа.

#### 7.2.3.19 Легкая цепь h#11D5-T19L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 70 (аспарагиновая кислота), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, лейцин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T19L"-типа.

#### 7.2.3.20 Легкая цепь h#11D5-T20L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 69 (серин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, лизин, глицин, треонин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T20L"-типа.

#### 7.2.3.21 Легкая цепь h#11D5-T21L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 69 (серин), 70 (аспарагиновая кислота), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, лизин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T21L"-типа.

## 7.2.3.22 Легкая цепь h#11D5-T22L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, лизин, лейцин, глицин, треонин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T22L"-типа.

## 7.2.3.23 Легкая цепь h#11D5-T23L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин), 66 (аргинин), 69 (серин), 70 (аспарагиновая кислота), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T23L"-типа.

## 7.2.3.24 Легкая цепь h#11D5-T24L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серии), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серии), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серии), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, лейцин, глицин, треонин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T24L"-типа.

## 7.2.3.25 Легкая цепь h#11D5-T25L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 70 (аспарагиновая кислота), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серии), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, лейцин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T25L"-типа.

## 7.2.3.26 Легкая цепь h#11D5-T26L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 69 (серин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота),

80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, лизин, глицин, треонин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T26L"-типа.

#### 7.2.3.27 Легкая цепь h#11D5-T27L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 69 (серин), 70 (аспарагиновая кислота), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, лизин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T27L"-типа.

#### 7.2.3.28 Легкая цепь h#11D5-T28L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, лизин, лейцин, глицин, треонин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T28L"-типа.

#### 7.2.3.29 Легкая цепь h#11D5-T29L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 66 (аргинин), 69 (серин), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, глицин, треонин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T29L"-типа.

#### 7.2.3.30 Легкая цепь h#11D5-T30L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 66 (аргинин), 69 (серин), 70 (аспарагиновая кислота), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, глицин, треонин,

глутаминовую кислоту, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T30L"-типа.

#### 7.2.3.31 Легкая цепь h#11D5-T31L-типа:

5 Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, 10 представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30B), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, лейцин, глицин, треонин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T31L"-типа.

#### 15 7.2.3.32 Легкая цепь h#11D5-T32L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 69 (серин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серии), 104 (лейцин), 106 (лейцин) 20 и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, лизин, глицин, треонин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T32L"- 25 типа.

#### 7.2.3.33 Легкая цепь h#11D5-T33L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серии), 66 (аргинин), 69 (серии), 71 (тирозин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 30 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO:142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, глицин, треонин, фенилаланин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как 35 вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T33L"-типа.

#### 7.2.3.34 Легкая цепь h#11D5-T34L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин), 66 (аргинин), 69 (серин), 70 (аспарагиновая кислота), 72 (серин), 79 (глутаминовая 40 кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) вариабельного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, глицин, треонин, глутаминовую кислоту, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин 45 соответственно, был обозначен как вариабельный участок легкой цепи "h#11D5-T34L"-типа.

#### 7.2.3.35 Легкая цепь h#11D5-T35L-типа:

Гуманизированный вариабельный участок легкой цепи #11D5, созданный путем

замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин), 47 (метионин), 66 (аргинин), 69 (серин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) переменного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, лейцин, глицин, треонин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как переменный участок легкой цепи "h#11D5-T35L"-типа.

#### 7.2.3.36 Легкая цепь h#11D5-T36L-типа:

Гуманизированный переменный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 40 (валин), 43 (серин), 45 (аргинин), 66 (аргинин), 69 (серин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) переменного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, пролин, аланин, лизин, глицин, треонин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как переменный участок легкой цепи "h#11D5-T36L"-типа.

#### 7.2.3.37 Легкая цепь h#11D5-T37L-типа:

Гуманизированный переменный участок легкой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№11 (метионин), 13 (треонин), 15 (лейцин), 36 (фенилаланин), 40 (валин), 43 (серин), 66 (аргинин), 69 (серин), 72 (серин), 79 (глутаминовая кислота), 80 (серин), 83 (метионин), 85 (изолейцин), 100 (серин), 104 (лейцин), 106 (лейцин) и 109 (пролин) переменного участка легкой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 142 Списка Последовательностей (Фигура 30D), на лейцин, аланин, валин, тирозин, пролин, аланин, глицин, треонин, треонин, глутамин, пролин, фенилаланин, треонин, глутамин, валин, изолейцин и треонин соответственно, был обозначен как переменный участок легкой цепи "h#11D5-T37L"-типа.

#### 7.2.4 Гуманизация тяжелой цепи #11D5 (Фигуры 12 и 13)

##### 7.2.4.1 Тяжелая цепь h#11D5-T1H-типа:

Гуманизированный переменный участок тяжелой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагин), 44 (лизин), 45 (метионин), 67 (изолейцин), 68 (серин), 71 (аргинин), 75 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (треонин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) переменного участка тяжелой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 143 Списка Последовательностей (Фигура 30E), на глутамин, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, метионин, глицин, лейцин, валин, треонин, валин, глутаминовую кислоту, серин, лизин, серин, пролин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как переменный участок тяжелой цепи "h#11D5-T1H"-типа.

##### 7.2.4.2 Тяжелая цепь h#11D5-T2H-типа:

Гуманизированный переменный участок тяжелой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагин), 44 (лизин), 45 (метионин), 71 (аргинин), 75 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (треонин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) переменного участка тяжелой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 143 Списка Последовательностей

(Фигура 30Е), на треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, метионин, глицин, лейцин, валин, глутаминовую кислоту, серин, лизин, серин, пролин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11D5-T2H"-типа.

#### 7.2.4.3 Тяжелая цепь h#11D5-T3H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 75 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (треонин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 143 Списка Последовательностей (Фигура 30Е), на треонин, треонин, серин, лизин, серин, лизин, серин, пролин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11D5-T3H"-типа.

#### 7.2.4.4 Тяжелая цепь h#11D5-T4H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 6 (глутаминовая кислота), 7 (серин), 9 (пролин), 12 (валин), 16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагин), 44 (лизин), 45 (метионин), 67 (изолейцин), 68 (серин), 75 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (треонин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 143 Списка Последовательностей (Фигура 30Е), на глутамин, глутамин, триптофан, аланин, лейцин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, валин, треонин, лизин, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11D5-T4H"-типа.

#### 7.2.4.5 Тяжелая цепь h#11D5-T5H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№6 (глутаминовая кислота), 7 (серин), 9 (пролин), 12 (валин), 16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагин), 44 (лизин), 45 (метионин), 75 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (треонин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 143 Списка Последовательностей (Фигура 30Е), на глутамин, триптофан, аланин, лейцин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, лизин, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11D5-T5H"-типа.

#### 7.2.4.6 Тяжелая цепь h#11D5-T6H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагин), 44 (лизин), 45 (метионин), 75 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (треонин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 143 Списка Последовательностей (Фигура 30Е), на глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, лизин, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11D5-T6H"-типа.

Т6Н"-типа.

#### 7.2.4.7 Тяжелая цепь h#11D5-T7H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагин), 44 (лизин), 45 (метионин), 67 (изолейцин), 68 (серин), 75 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (треонин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 143 Списка Последовательностей (Фигура 30Е), на глутамин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, валин, треонин, лизин, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11D5-T7H"-типа.

#### 7.2.4.8 Тяжелая цепь h#11D5-T8H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагин), 44 (лизин), 45 (метионин), 67 (изолейцин), 68 (серин), 75 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (треонин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #HD5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 143 Списка Последовательностей (Фигура 30Е), на глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, валин, треонин, лизин, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11D5-T8H"-типа.

#### 7.2.4.9 Тяжелая цепь h#11D5-T9H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагин), 44 (лизин), 45 (метионин), 68 (серин), 75 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (треонин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 143 Списка Последовательностей (Фигура 30Е), на глутамин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, треонин, лизин, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11D5-T9H"-типа.

#### 7.2.4.10 Тяжелая цепь h#11D5-T10H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 16 (глутамин), 17 (серии), 23 (серии), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагин), 44 (лизин), 45 (метионин), 67 (изолейцин), 75 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (треонин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) вариабельного участка тяжелой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 143 Списка Последовательностей (Фигура 30Е), на глутамин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, валин, лизин, серин, лизин, серии, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как вариабельный участок тяжелой цепи "h#11B5-T10H"-типа.

#### 7.2.4.11 Тяжелая цепь h#11D5-T11H-типа:

Гуманизированный вариабельный участок тяжелой цепи #11D5, созданный путем



замены аминокислот №№16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагин), 44 (лизин), 45 (метионин), 68 (серин), 75 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (треонин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) варибельного участка тяжелой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 143 Списка Последовательностей (Фигура 30Е), на глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, треонин, лизин, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как варибельный участок тяжелой цепи "h#11D5-T11H"-типа.

#### 7.2.4.12 Тяжелая цепь h#11D5-T12H-типа:

Гуманизированный варибельный участок тяжелой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№16 (глутамин), 17 (серин), 23 (серин), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагин), 44 (лизин), 45 (метионин), 67 (изолейцин), 75 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (треонин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) варибельного участка тяжелой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 143 Списка Последовательностей (Фигура 30Е), на глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, валин, лизин, серин, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как варибельный участок тяжелой цепи "h#11D5-T12H"-типа.

#### 7.2.4.13 Тяжелая цепь h#11D5-T13H-типа:

Гуманизированный варибельный участок тяжелой цепи #11D5, созданный путем замены аминокислот №№1 (глутаминовая кислота), 16 (глутамин), 17 (серии), 23 (серии), 25 (треонин), 39 (лизин), 40 (фенилаланин), 43 (аспарагин), 44 (лизин), 45 (метионин), 75 (аргинин), 79 (фенилаланин), 81 (глутамин), 83 (аспарагин), 87 (треонин), 88 (глутаминовая кислота), 92 (треонин), 107 (валин) и 108 (метионин) варибельного участка тяжелой цепи #11D5, представленной последовательностью SEQ ID NO: 143 Списка Последовательностей (Фигура 30Е), на глутамин, глутаминовую кислоту, треонин, треонин, серин, глутамин, пролин, лизин, глицин, лейцин, лизин, серии, лизин, серин, аланин, аланин, валин, треонин и лейцин соответственно, был обозначен как варибельный участок тяжелой цепи "h#11D5-T13H"-типа.

Пример 8: Конструирование универсальных векторов для экспрессии гуманизированных антител

#### 8.1 Конструирование вектора pEF6KCL для экспрессии легких цепей

гуманизированных антител.

ПЦР проводили с использованием в качестве матрицы плазмиды pEF6/V5-His B (Invitrogen Corp.) и показанных ниже праймеров для получения фрагмента ДНК, находящегося сразу за участком BGHrA (2174) и до SmaI (2958) (фрагмента ДНК, содержащего область начала репликации f1 и промотор и область начала репликации SV40, далее называемый «фрагмент А»):

5'-ccacgcgcctgtacggcgccattaagc-3' (праймер EFF1: SEQ ID NO:1) и

5'-aaaccgggagcttttgcaaaagcctagg-3' (праймер EFsmaR: SEQ ID NO:2).

Полученный фрагмент А лигировали ПЦР с перекрытием с фрагментом ДНК, включающим последовательность ДНК, кодирующую сигнал секрети к-цепи человека, константный участок к-цепи человека и сигнал добавления поли-(А) человека (SEQ ID NO:3; далее называемый "фрагмент В"). Полученный фрагмент ДНК, в котором фрагмент А был лигирован с фрагментом В (далее называемый "фрагмент А+В") был расщеплен эндонуклеазами рестрикции KpnI и SmaI и лигирован в плазмиду pEF6/V5-

His B (Invitrogen Corp.), предварительно расщепленную эндонуклеазами рестрикции KpnI и SmaI для создания плазмиды для экспрессии L-цепи человека "pEF6KCL" (Фигура 19), содержащей сигнальную последовательность, сайт для клонирования, последовательность, кодирующую константный участок к-цепи человека, и сигнальную последовательность добавления поли-(А) человека под промотором EF1.

8.2 Конструирование вектора, pEF1/FCCU-1 для экспрессии тяжелых цепей гуманизированных антител.

#### 8.2.1 Конструирование pEF1/KCL

Плазмида pEF6KCL, полученная описанным выше способом, расщеплялась эндонуклеазами рестрикции KpnI и SmaI. Полученный фрагмент ДНК дотировали в pEF1/мус-His B (Invitrogen Corp.), предварительно расщепленную эндонуклеазами рестрикции KpnI и SmaI, для получения плазмиды pEF1/KCL.

#### 8.2.2 Конструирование pEF1/FCCU-1

Фрагмент ДНК, включающий последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность сигнальной последовательности и константного участка IgG1 человека (SEQ ID NO: 4), расщепляли эндонуклеазами рестрикции NheI и PmeI и лигировали в плазмиду pEF1/KCL, предварительно расщепленную эндонуклеазами рестрикции NheI и PmeI для создания плазмиды pEF1/FCCU-1 для экспрессии тяжелой цепи человека, содержащей сигнальную последовательность, сайт для клонирования, последовательность, кодирующую константный участок тяжелой цепи человека, и сигнальную последовательность добавления поли-(А) человека под промотором EF1.

Пример 9: Получение гена гуманизированного антитела моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека

а) Конструирование векторов для экспрессии легких цепей h#11B7-T1L, h#11B7-T2L, h#11B7-T3L, h#11B7-T4L, h#11B7-T5L, h#11B7-T6L, h#11B7-T7L, h#11B7-T8L, h#11B7-T9L, h#11B7-T10L, h#11B7-T11L, h#11B7-T12L и h#11B7-T13L

Каждая ДНК, содержащая ген, кодирующий вариабельный участок легкой цепи h#11B7-T1L, h#11B7-T2L, h#11B7-T3L, h#11B7-T4L, h#11B7-T5L, h#11B7-T6L, h#11B7-T7L, h#11B7-T8L, h#11B7-T9L, h#11B7-T10L, h#11B7-T11L, h#11B7-T12L или h#11B7-T13L (Фигуры 1 и 2), представленный аминокислотными остатками Nos. от 21 до 129 последовательностей SEQ ID NO:18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 соответственно из Списка Последовательностей, слитая с сигналом секреции, была синтезирована (MBL Medical & Biological Laboratories Co., Ltd, Artificial Gene Synthesis Service) и расщеплена эндонуклеазами рестрикции NheI и BsiWI. Полученные фрагменты ДНК по отдельности были встроены по сайтам универсальных векторов для экспрессии легких цепей гуманизированных антител (pEF6KCL), предварительно расщепленных эндонуклеазами рестрикции NheI и BsiWI, для создания векторов для экспрессии легких цепей h#11B7-T1L, h#11B7-T2L, h#11B7-T3L, h#11B7-T4L, h#11B7-T5L, h#11B7-T6L, h#11B7-T7L, h#11B7-T8L, h#11B7-T9L, h#11B7-T10L, h#11B7-T11L, h#11B7-T12L и h#11B7-T13L. Полученные экспрессионные векторы были обозначены как "pEF6KCL/h#11B7-T1L", "pEF6KCL/h#11B7-T2L", "pEF6KCL/h#11B7-T3L", "pEF6KCL/h#11B7-T4L", "pEF6KCL/h#11B7-T5L", "pEF6KCL/h#11B7-T6L", "pEF6KCL/h#11B7-T7L", "pEF6KCL/h#11B7-T8L", "pEF6KCL/h#11B7-T9L", "pEF6KCL/h#11B7-T10L", "pEF6KCL/h#11B7-T11L", "pEF6KCL/h#11B7-T12L" или "pEF6KCL/h#11B7-T13L", и вставка из каждого экспрессионного вектора представлена нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 или 17 из Списка Последовательностей соответственно.

б) Конструирование векторов для экспрессии тяжелых цепей h#11B7-T1H, h#11B7-

T2H, h#11B7-T3H, h#11B7-T4H, h#11B7-T5H, h#11B7-T6H, h#11B7-T7H, h#11B7-T8H и h#11B7-T9H

Каждая ДНК, содержащая ген, кодирующий вариабельный участок тяжелой цепи h#11B7-T4H, h#11B7-T5H, h#11B7-T6H, h#11B7-T7H, h#11B7-T8H или h#11B7-T9H (Фигуры 4 и 5), представленный аминокислотными остатками Nos. от 20 до 132 последовательностей SEQ ID NO:40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47 или 48 соответственно, из Списка Последовательностей, была синтезирована (MBL Medical & Biological Laboratories Co., Ltd, Artificial Gene Synthesis Service) и расщеплена эндонуклеазой рестрикции BspI. Полученные фрагменты ДНК по отдельности были вставлены в сайты универсальных векторов для экспрессии тяжелых цепей гуманизированных антител (pEF1/FCCU-1), предварительно расщепленных эндонуклеазой рестрикции BspI, для создания векторов для экспрессии тяжелых цепей #11B7-T1H, h#11B7-T2H, h#11B7-T3H, h#11B7-T4H, h#11B7-T5H, h#11B7-T6H, h#11B7-T7H, h#11B7-T8H и h#11B7-T9H. Полученные экспрессионные векторы были обозначены как "pEF1/FCCU/h#11B7-T1H", "pEF1/FCCU/h#11B7-T2H", "pEF1/FCCU/h#11B7-T3H", "pEF1/FCCU/h#11B7-T4H", "pEF1/FCCU/h#11B7-T5H", "pEF1/FCCU/h#11B7-T6H", "pEF1/FCCU/h#11B7-T7H", "pEF1/FCCU/h#11B7-T8H" или "pEF1/FCCU/h#11B7-T9H", и вставка из каждого экспрессионного вектора представлена нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO:31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38 или 39 из Списка Последовательностей соответственно.

Пример 10: Получение гуманизированного антитела моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека

#### а) Получение гуманизированного антитела

Клетки FreeStyle 293-F в количестве  $1,5 \times 10^8$  в логарифмической фазе роста были посеяны в 100 мл свежей среды FreeStyle 293 Expression Medium (Invitrogen Corp.) и культивировались при перемешивании (125 об/мин) в инкубаторе при 37°C в атмосфере 8% CO<sub>2</sub>. Полиэтиленимин (Polyscience #24765) в количестве 1 мг растворяли в 4 мл среды Opti-Pro SFM (Invitrogen Corp.) и оставляли при комнатной температуре на 5 минут. Плазмида для экспрессии тяжелой цепи (0,05 мг) и плазмида для экспрессии легкой цепи (0,15 мг), полученные с использованием набора PureLink HiPure Plasmid kit (Invitrogen Corp.), были суспендированы в 4 мл среды Opti-Pro SFM (Invitrogen Corp.). После этого 4 мл смешанного раствора плазмид для экспрессии/ Opti-Pro SFM добавляли к 4 мл смешанного раствора Полиэтиленимин/Opti-Pro SFM, который был выдержан при комнатной температуре в течение 5 минут, и дополнительно оставляли при комнатной температуре на 5 минут. После этого 8 мл смешанного раствора Полиэтиленимин/плазмид для экспрессии/Opti-Pro SFM добавляли к суспензии клеток FreeStyle 293-F и продолжали их культивирование при перемешивании. Через 7 дней культивирования при 37°C в атмосфере 8% CO<sub>2</sub> собирали культуральный супернатант.

#### б) Очистка гуманизированного антитела

Культуральный супернатант, полученный в предшествующем параграфе а), был очищен аффинной хроматографией на колонке с Протеином А. Для этого 100 мл культурального супернатанта помещали в колбу с крышкой объемом 500 мл, в которую добавляли 1 мл суспензии MabSelect SuRe (GE Healthcare Bio-science Ltd.) (50% суспензия), уравновешенной буфером PBS. Смесь перемешивали в течение ночи при 100 об/мин в инкубаторе при 10°C. Культуральный супернатант клеток FreeStyle 293-F/суспензию MabSelect SuRe обрабатывали носителем из 5 мл колонки Zeba Spin Column (PIERCE). Весь носитель вносили в колонку и промывали 10 мл 1 М NaCl. После этого промывали колонку 1 мл 1 М раствора аргинина (pH 4,0) и собирали фракции, содержащие антитела.

Фракции вносили в пробирки Centrifugal Filter Device (Amicon Ultra-4, отсечение по молекулярному весу: 50 кДа, Millipore Corp.), после чего заменяли раствор на цитратный буфер и доводили объем до 200 мкл для получения очищенных образцов.

Гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T1L и pEF1/FCCU/h#11B7-T1H, было обозначено как "h#11B7-T1"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T2L и pEF1/FCCU/h#11B7-T2H, было обозначено как "h#11B7-T2"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T3L и pEF1/FCCU/h#11B7-T3H, было обозначено как "h#11B7-T3"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T4L и pEF1/FCCU/h#11B7-T4H, было обозначено как "h#11B7-T4"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T5L и pEF1/FCCU/h#11B7-T5H, было обозначено как "h#11B7-T5"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T6L и pEF1/FCCU/h#11B7-T6H, было обозначено как "h#11B7-T6"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T7L и pEF1/FCCU/h#11B7-T7H, было обозначено как "h#11B7-T7"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T8L и pEF1/FCCU/h#11B7-T7H, было обозначено как "h#11B7-T8"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T9L и pEF1/FCCU/h#11B7-T7H, было обозначено как "h#11B7-T9"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T10L и pEF1/FCCU/h#11B7-T7H, было обозначено как "h#11B7-T10"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T11L и pEF1/FCCU/h#11B7-T7H, было обозначено как "h#11B7-T11"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T12L и pEF1/FCCU/h#11B7-T7H, было обозначено как "h#11B7-T12"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T13L и pEF1/FCCU/h#11B7-T7H, было обозначено как "h#11B7-T13"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T7L и pEF1/FCCU/h#11B7-T8H, было обозначено как "h#11B7-T14"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T8L и pEF1/FCCU/h#11B7-T8H, было обозначено как "h#11B7-T15"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T9L и pEF1/FCCU/h#11B7-T8H, было обозначено как "h#11B7-T16"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T10L и pEF1/FCCU/h#11B7-T8H, было обозначено как "h#11B7-T17"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T11L и pEF1/FCCU/h#11B7-T8H, было обозначено как "h#11B7-T18"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T12L и pEF1/FCCU/h#11B7-T8H, было обозначено как "h#11B7-T19"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T13L и pEF1/FCCU/h#11B7-T8H, было обозначено как "h#11B7-T20"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T7L и pEF1/FCCU/h#11B7-T9H, было обозначено как "h#11B7-T21"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T8L и pEF1/FCCU/h#11B7-T9H, было обозначено как "h#11B7-T22"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T9L и pEF1/FCCU/h#11B7-T9H, было обозначено как "h#11B7-T23"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T10L и pEF1/FCCU/h#11B7-T9H, было обозначено как "h#11B7-T24"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T11L и pEF1/FCCU/h#11B7-T9H, было обозначено как "h#11B7-T25";

гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T12L и pEF1/FCCU/h#11B7-T9H, было обозначено как "h#11B7-T26"; и гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T13L и pEF1/FCCU/h#11B7-T9H, было обозначено как "h#11B7-T27".

5

| Таблица 1  |                      |                     |
|------------|----------------------|---------------------|
| h#11B7     | плазмида Н           | плазмида L          |
| h#11B7-T1  | pEF1/FCCU/h#11B7-T1H | pEF6KCL/h#11B7-T1L  |
| h#11B7-T2  | pEF1/FCCU/h#11B7-T2H | pEF6KCL/h#11B7-T2L  |
| h#11B7-T3  | pEF1/FCCU/h#11B7-T3H | pEF6KCL/h#11B7-T3L  |
| h#11B7-T4  | pEF1/FCCU/h#11B7-T4H | pEF6KCL/h#11B7-T4L  |
| h#11B7-T5  | pEF1/FCCU/h#11B7-T5H | pEF6KCL/h#11B7-T5L  |
| h#11B7-T6  | pEF1/FCCU/h#11B7-T6H | pEF6KCL/h#11B7-T6L  |
| h#11B7-T7  | pEF1/FCCU/h#11B7-T7H | pEF6KCL/h#11B7-T7L  |
| h#11B7-T8  | pEF1/FCCU/h#11B7-T7H | pEF6KCL/h#11B7-T8L  |
| h#11B7-T9  | pEF1/FCCU/h#11B7-T7H | pEF6KCL/h#11B7-T9L  |
| h#11B7-T10 | pEF1/FCCU/h#11B7-T7H | pEF6KCL/h#11B7-T10L |
| h#11B7-T11 | pEF1/FCCU/h#11B7-T7H | pEF6KCL/h#11B7-T11L |
| h#11B7-T12 | pEF1/FCCU/h#11B7-T7H | pEF6KCL/h#11B7-T12L |
| h#11B7-T13 | pEF1/FCCU/h#11B7-T7H | pEF6KCL/h#11B7-T13L |
| h#11B7-T14 | pEF1/FCCU/h#11B7-T8H | pEF6KCL/h#11B7-T7L  |
| h#11B7-T15 | pEF1/FCCU/h#11B7-T8H | pEF6KCL/h#11B7-T8L  |
| h#11B7-T16 | pEF1/FCCU/h#11B7-T8H | pEF6KCL/h#11B7-T9L  |
| h#11B7-T17 | pEF1/FCCU/h#11B7-T8H | pEF6KCL/h#11B7-T10L |
| h#11B7-T18 | pEF1/FCCU/h#11B7-T8H | pEF6KCL/h#11B7-T11L |
| h#11B7-T19 | pEF1/FCCU/h#11B7-T8H | pEF6KCL/h#11B7-T12L |
| h#11B7-T20 | pEF1/FCCU/h#11B7-T8H | pEF6KCL/h#11B7-T13L |
| h#11B7-T21 | pEF1/FCCU/h#11B7-T9H | pEF6KCL/h#11B7-T7L  |
| h#11B7-T22 | pEF1/FCCU/h#11B7-T9H | pEF6KCL/h#11B7-T8L  |
| h#11B7-T23 | pEF1/FCCU/h#11B7-T9H | pEF6KCL/h#11B7-T9L  |
| h#11B7-T24 | pEF1/FCCU/h#11B7-T9H | pEF6KCL/h#11B7-T10L |
| h#11B7-T25 | pEF1/FCCU/h#11B7-T9H | pEF6KCL/h#11B7-T11L |
| h#11B7-T26 | pEF1/FCCU/h#11B7-T9H | pEF6KCL/h#11B7-T12L |
| h#11B7-T27 | pEF1/FCCU/h#11B7-T9H | pEF6KCL/h#11B7-T13L |

30

Пример 11: Получение гена гуманизированного антитела моноклонального антитела крысы #11D5 против AXL человека

а) Конструирование векторов для экспрессии легких цепей h#11D5-T1L, h#11D5-T2L, h#11D5-T3L, h#11D5-T4L, h#11D5-T5L и h#11D5-T6L

35

Каждая ДНК, содержащая ген, кодирующий вариативный участок легкой цепи h#11D5-T1L, h#11D5-T2L, h#11D5-T3L, h#11D5-T4L, h#11D5-T5L и h#11D5-T6L (Фигура 6), представленный аминокислотными остатками Nos. от 21 до 129 последовательностей SEQ ID NO:55, 56, 57, 58, 59 или 60 соответственно, из Списка Последовательностей, слитая с сигналом секреции, была синтезирована (MBL Medical & Biological Laboratories Co., Ltd, Artificial Gene Synthesis Service) и расщеплена эндонуклеазами рестрикции NheI и BsiWI. Полученные фрагменты ДНК по отдельности были вставлены по сайтам универсальных векторов для экспрессии легких цепей гуманизированных антител (pEF6KCL), предварительно расщепленных эндонуклеазами рестрикции NheI и BsiWI, для создания векторов для экспрессии легких цепей h#11D5-T1L, h#11D5-T2L, h#11D5-T3L, h#11D5-T4L, h#11D5-T5L и h#11D5-T6L. Полученные экспрессионные векторы были обозначены как "pEF6KCL/h#11D5-T1L", "pEF6KCL/h#11D5-T2L", "pEF6KCL/h#11D5-T3L", "pEF6KCL/h#11D5-T4L", "pEF6KCL/h#11D5-T5L" или "pEF6KCL/h#11B7-T6L", и вставка из каждого экспрессионного вектора представлена нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO:49, 50, 51, 52, 53 или 54 из Списка Последовательностей

45

соответственно.

б) Конструирование векторов для экспрессии тяжелых цепей h#11D5-T1H, h#11D5-T2H, h#11D5-T3H, h#11D5-T4H, h#11D5-T5H и h#11D5-T6H Каждая ДНК, содержащая ген, кодирующий вариабельный участок тяжелой цепи h#11D5-T1H, h#11D5-T2H, h#11D5-T3H, h#11D5-T4H, h#11D5-T5H или h#11D5-T6H (Фигура 12), представленный аминокислотными остатками Nos. от 20 до 132 последовательностей SEQ ID NO:67, 68, 69, 70, 71, или 72 соответственно, из Списка Последовательностей, была синтезирована (MBL Medical & Biological Laboratories Co., Ltd, Artificial Gene Synthesis Service) и расщеплена эндонуклеазой рестрикции B1pI. Полученные фрагменты ДНК по отдельности были встроены по сайтам универсальных векторов для экспрессии тяжелых цепей гуманизированных антител (pEF1/FCCU-1), предварительно расщепленных эндонуклеазой рестрикции B1pI, для создания векторов для экспрессии тяжелых цепей M11D5-T1H, h#11D5-T2H, h#11D5-T3H, h#11D5-T4H, h#11D5-T5H и h#11D5-T6H. Полученные экспрессионные векторы были обозначены как "pEF1/FCCU/h#11D5-T1H", "pEF1/FCCU/h#11D5-T2H", "pEF1/FCCU/h#11D5-T3H", "pEF1/FCCU/h#11D5-T4H", "pEF1/FCCU/h#11D5-T5H" или "pEF1/FCCU/h#11D5-T6H", и вставка из каждого экспрессионного вектора представлена нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO:61, 62, 63, 64, 65 или 66 из Списка Последовательностей соответственно.

Пример 12: Получение гуманизированного антитела моноклонального антитела крысы #11D5 против AXL человека

а) Получение гуманизированного антитела

Клетки FreeStyle 293-F в количестве  $1,5 \times 10^8$  в логарифмической фазе роста были посеяны в 100 мл свежей среды FreeStyle 293 Expression Medium (Invitrogen Corp.) и культивировались при перемешивании (125 об/мин) в инкубаторе при 37°C в атмосфере 8% CO<sub>2</sub>. Полиэтиленимин (Polyscience #24765) в количестве 1 мг растворяли в 4 мл среды Opti-Pro SFM (Invitrogen Corp.) и оставляли при комнатной температуре на 5 минут. Плазмида для экспрессии тяжелой цепи (0,05 мг) и плазмида для экспрессии легкой цепи (0,15 мг), полученные с использованием набора PureLink HiPure Plasmid kit (Invitrogen Corp.), были суспендированы в 4 мл среды Opti-Pro SFM (Invitrogen Corp.). После этого 4 мл смешанного раствора плазмиды для экспрессии/ Opti-Pro SFM добавляли к 4 мл смешанного раствора Полиэтиленимин/Opti-Pro SFM, который был выдержан при комнатной температуре в течение 5 минут, и дополнительно оставляли при комнатной температуре на 5 минут. После этого 8 мл смешанного раствора Полиэтиленимин/плазмиды для экспрессии/Opti-Pro SFM добавляли к суспензии клеток FreeStyle 293-F и продолжали их культивирование на шейкере. Через 7 дней культивирования при 37°C в атмосфере 8% CO<sub>2</sub> собирали культуральный супернатант.

б) Очистка гуманизированного антитела

Культуральный супернатант, полученный в предшествующем параграфе а), был очищен аффинной хроматографией на колонке с Протеином А. Для этого 100 мл культурального супернатанта помещали в колбу с крышкой объемом 500 мл, в которую добавляли 1 мл суспензии MabSelect SuRe (GE Healthcare Bio-science Ltd.) (50% суспензия), уравновешенной буфером PBS. Смесь перемешивали в течение ночи при 100 об/мин в инкубаторе при 10°C. Культуральный супернатант клеток FreeStyle 293-F/суспензию MabSelect SuRe обрабатывали носителем из 5 мл колонки Zeba Spin Column (PIERCE). Весь носитель вносили в колонку и промывали 10 мл 1 М NaCl. После этого промывали колонку 1 мл 1 М раствора аргинина (pH 4,0) и собирали фракции, содержащие антитела. Фракции вносили в пробирки Centrifugal Filter Device (Amicon Ultra-4, отсечение по

молекулярному весу: 50 кДа, Millipore Corp.), после чего заменяли раствор на цитратный буфер и доводили конечный объем до 200 мкл для получения очищенных образцов.

Гуманизированное антитело #11D5, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11D5-T1L и pEF1/FCCU/h#11D5-T1H, было обозначено как "h#11D5-T1"; гуманизированное антитело #11D5, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11D5-T2L и pEF1/FCCU/h#11D5-T2H, было обозначено как "h#11D5-T2"; гуманизированное антитело #11D5, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11D5-T3L и pEF1/FCCU/h#11D5-T3H, было обозначено как "h#11D5-T3"; гуманизированное антитело #11D5, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11D5-T4L и pEF1/FCCU/h#11D5-T4H, было обозначено как "h#11D5-T4"; гуманизированное антитело #11D5, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11D5-T5L и pEF1/FCCU/h#11D5-T5H, было обозначено как "h#11D5-T5"; и гуманизированное антитело #11D5, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11D5-T6L и pEF1/FCCU/h#11D5-T6H, было обозначено как "h#11D5-T6".

Пример 13: Определение сродства гуманизированного антитела моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека к слитому белку AXL-Fc человека

Гуманизированные антитела от h#11B7-T1 до h#11B7-T27, происходящие из моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека, были оценены по их сродству к AXL-Fc человека описанным ниже способом. AXL-Fc человека (производство R&D Systems, #154-AL) был растворен в PBS до концентрации 1 мкг/мл. После этого данный раствор вносили по 100 мкл/лунку в планшет Immuno Plate (производство Nalge Nunc International K.K., #437111) и оставляли его инкубироваться в течение ночи при 4°C для адсорбции белка на планшете. На следующий день лунки промывали 5 раз раствором PBS-T (PBS и 0,05% (по объему) Tween 20). После этого добавляли раствор, содержащий обезжиренное молоко (производство Morinaga Milk Industry Co., Ltd.), разведенное до 5% буфером PBS, в количестве 100 мкл/лунку и выдерживали при комнатной температуре в течение 2 часов. Растворы из лунок удаляли и промывали лунки 5 раз раствором PBS-T. После этого очищенные гуманизированные антитела от T1 до T27 крысы против AXL человека, полученные из моноклонального антитела крысы #11B7 в Примере 10, по отдельности разводили до конечной концентрации от 1 мкг/мл до 0,00256 нг/мл (серии 5-кратных разведений) в растворе PBS, содержащем 0,5% обезжиренного молока. Затем этот раствор вносили в лунки в количестве 100 мкл/лунку и оставляли планшет при комнатной температуре на 2 часа. В данном эксперименте концентрация каждого антитела определялась, как описано в Примере 15. Лунки промывали 5 раз раствором PBS-T. После этого добавляли конъюгированный с щелочной фосфатазой AffiniPure IgG козы против антител человека (производство Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., #109-055-097), разведенный в 2500 раз раствором TBS-T (TBS и 0,05% (по объему) Tween 20) в количестве 100 мкл/лунку и оставляли при комнатной температуре на 1 час. После этого растворы удаляли и промывали лунки 5 раз раствором TBS-T. После этого добавляли раствор флуоресцентного субстрата (производство Roche Diagnostics K.K., #11681982001) в количестве 100 мкл/лунку для проведения флуоресцентной реакции. Интенсивность флуоресценции в планшетах с адсорбированным AXL-Fc человека измеряли через 15 минут после добавления флуоресцентного субстрата с использованием прибора SpectraMax M5 (производство Molecular Devices Corp.). В результате было установлено, что из 27 исследованных образцов гуманизированных моноклональных антител #11B7 крысы против AXL человека, антитела #11B7-T1 и h#11B7-T4 имеют более низкую связывающую активность, чем химерное антитело человека. Однако было показано, что остальные 25 образцов имеют связывающую активность, которая почти равна таковой химерного антитела

человека к белку AXL-Fc человека, зависимым от концентрации антитела образом (Фигуры 19, 20, 21 и 22).

Пример 14: Определение сродства гуманизированного антитела моноклонального антитела крысы #11D5 против AXL человека к слитому белку AXL-Fc человека

5 Гуманизированные антитела от h#11D5-T1 до h#11D5-T6, происходящие из моноклонального антитела крысы #11D5 против AXL человека, были оценены по их сродству к AXL-Fc человека описанным ниже способом. AXL-Fc человека (производство R&D Systems, #154-AL) был растворен в PBS до концентрации 1 мкг/мл. После этого  
10 данный раствор вносили по 100 мкл/лунку в планшет Immuno Plate (производство Nalge Nunc International K.K., #437111) и оставляли его инкубироваться в течение ночи при 4°C для адсорбции белка на планшете. На следующий день лунки промывали 5 раз раствором PBS-T (PBS и 0,05% (по объему) Tween 20). После этого добавляли раствор, содержащий обезжиренное молоко (производство Morinaga Milk Industry Co., Ltd.), разведенное до 5% буфером PBS, в количестве 100 мкл/лунку и выдерживали при  
15 комнатной температуре в течение 2 часов. Растворы из лунок удаляли и промывали лунки 5 раз раствором PBS-T. После этого очищенные гуманизированные антитела от T1 до T6 крысы против AXL человека, полученные из моноклонального антитела крысы #11D5 в Примере 12, по отдельности разводили до конечной концентрации от 1 мкг/мл до 0,00256 нг/мл (серии 5-кратных разведений) в растворе PBS, содержащем  
20 0,5% обезжиренного молока. Затем этот раствор вносили в лунки в количестве 100 мкл/лунку и оставляли при комнатной температуре на 2 часа. В данном эксперименте концентрация каждого антитела определялась, как описано в Примере 15. Лунки промывали 5 раз раствором PBS-T. После этого добавляли конъюгированный с щелочной фосфатазой AffiniPure IgG козы против антител человека (производство  
25 Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., #109-055-097), разведенный в 2500 раз раствором TBS-T (TBS и 0,05% (по объему) Tween 20) в количестве 100 мкл/лунку и оставляли планшет при комнатной температуре на 1 час. После этого растворы удаляли и промывали лунки 5 раз раствором TBS-T. После этого добавляли раствор флуоресцентного субстрата (производство Roche Diagnostics K.K., #11681982001) в  
30 количестве 100 мкл/лунку для проведения флуоресцентной реакции. Интенсивность флуоресценции в планшетах с адсорбированным AXL-Fc человека измеряли через 15 минут после добавления флуоресцентного субстрата с использованием прибора SpectraMax M5 (производство Molecular Devices Corp.). В результате было установлено, что из 6 исследованных образцов гуманизированных антител из моноклонального  
35 антитела #11D5 крысы против AXL человека, антитела h#11D5-T4, h#11D5-T5 и h#11D5-T6 имеют связывающую активность, которая почти равна таковой химерного антитела человека к белку AXL-Fc человека, зависимым от концентрации антител образом (Фигура 23).

Пример 15: Расчет коэффициента поглощения и прямое измерение поглощения белка гуманизированных антител из моноклональных антител крысы #11B7 и #11D5 против AXL человека

Концентрацию белка гуманизированных антител от h#11B7-T1 до h#11B7-T27, полученных из моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека, и от h#11D5-T1 до h#11D5-T6, полученных из моноклонального антитела крысы #11D5  
45 против AXL человека, определяли методом, приведенным ниже. Каждое гуманизированное антитело на основе моноклональных антител крысы #11B7 или #11D5 против AXL человека, полученное в Примерах 10 или 12 соответственно, разводили с учетом его массы с использованием весов MX5 Automated-S microbalance



(METTLER TOLEDO). Измеряли поглощение при 280 нм (A280) для каждого антитела на спектрофотометре DU-7400 UV-vis Spectrophotometer (Beckman Coulter, Inc.) при комнатной температуре, используя кварцевые кюветы. Концентрацию белка каждого антитела рассчитывали с учетом коэффициента поглощения. Коэффициент поглощения каждого антитела определяли с использованием программы Sednterp, которую можно скачать с сайта National Institute of Health (<http://jphilo.mailway.com/download.htm>). Результаты представлены на Фигурах 24 (верхняя панель для антител от h#11B7-T1 до h#11B7-T14; нижняя панель для антител от h#11B7-T15 до h#11B7-T27) и 25 (для антител от h#11D5-T1 до h#11D5-T6).

Пример 16: Определение участка связывания (эпитопа) для моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека

а) Экспрессия и очистка тандемного IG домена AXL человека

ДНК, кодирующая белок, включающий IG домены AXL человека (аминокислоты Nos. от 26 до 220 в Базе Данных белков NCBI ACCESSION No. P\_30530: SEQ ID NO: 139), слитый с N-концевым His-tag и последовательностью для узнавания тромбином, была встроена в вектор pDEST14 (Invitrogen Corp., catalog No.: 11801-016). Бактерии E.coli Rosetta-gami B(DE3) (Novagen, catalog No.: 71136-4) трансформировали этой плазмидой и культивировали в среде TB (Invitrogen Corp., catalog No.: 22711-022). Выращенные бактериальные клетки разрушали ультразвуком и центрифугировали, а супернатант очищали с использованием колонки HisTrap HP (GE Healthcare, catalog No.: 17-5247-01). Элюат собирали и обессоливали на колонке PD-10 (GE Healthcare, catalog No.: 17-0851-01), после чего His-tag отщепляли обработкой тромбином (Sigma-Aldrich, catalog No.: T-7009). Расщепленный белок очищали на MONO Q 5/50 GL (GE Healthcare, catalog No.: 17-5166-01) и на колонке Superdex 75 10/300 (GE Healthcare, catalog No.: 17-5174-01) до получения единственной белковой полосы с молекулярной массой 21 кДа.

б) Экспрессия и очистка одиночного IG домена AXL человека

ДНК, кодирующая белок, включающий IG домены AXL человека (аминокислоты Nos. от 26 до 131 и от 129 до 220 в Базе Данных белков NCBI ACCESSION No. P\_30530), слитый с N-концевым His-tag и последовательностью для узнавания Фактором Ха, была встроена в вектор pDEST14 (Invitrogen Corp., catalog No.: 11801-016). Бактерии E.coli Rosetta-gami B(DE3) (Novagen, catalog No.: 71136-4) трансформировали этой плазмидой и культивировали в среде TB (Invitrogen Corp., catalog No.: 22711-022). Выращенные бактериальные клетки разрушали ультразвуком и центрифугировали, а супернатант очищали с использованием колонки HisTrap HP (GE Healthcare, catalog No.: 17-5247-01). После этого IG домены AXL человека очищали электрофорезом на колонке Superdex 75 10/300 (GE Healthcare, catalog No.: 17-5174-01) до получения единственной белковой полосы с молекулярной массой 11 кДа.

с) Определение участка связывания (эпитопа) на IG домене AXL человека для моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека

Участок связывания (эпитоп) на IG домене AXL человека для моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека был выявлен следующим методом: Пептиды, содержащие один из двух IG доменов AXL человека (NHis-hAXL26-131 и NHis-hAXL129-220), и пептид, содержащий оба этих IG домена AXL человека (hAXL26-220), были по отдельности разведены PBS до концентрации 1 мкг/мл. После этого каждый раствор был внесен в количестве 100 мкл/лунку в планшет Immuno Plate (производство Nalge Nunc International K.K., #437111) и оставлен на ночь при 4°C для связывания пептида на планшете. На следующий день лунки промывали 5 раз раствором PBS-T solution (PBS и 0,05% (по объему) Tween 20). После этого в лунки добавляли

раствор, содержащий обезжиренное молоко (производство Morinaga Milk Industry Co., Ltd.), разведенное PBS до 5%, в количестве 100 мкл/лунку и оставляли при комнатной температуре на 2 часа. Раствор из лунок удаляли и промывали лунки 5 раз раствором PBS-T. Моноклональное антитело крысы #11B7 против AXL человека разводили до 0,04 мкг/мл раствором PBS, содержащим 0,5% обезжиренного молока. Затем этот раствор вносили в количестве 100 мкл/лунку и выдерживали при комнатной температуре в течение 2 часов. После этого лунки промывали 5 раз раствором PBS-T. После этого добавляли конъюгированный с щелочной фосфатазой AffiniPure козы против IgG человека (производство Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., #109-055-097), разведенный в 2500 раз раствором TBS-T (TBS и 0,05% (по объему) Tween 20) в количестве 100 мкл/лунку и оставляли при комнатной температуре на 1 час. После этого растворы удаляли и промывали лунки 5 раз раствором TBS-T. После этого добавляли раствор флуоресцентного субстрата (производство Roche Diagnostics K.K., #11681982001) в количестве 100 мкл/лунку для проведения флуоресцентной реакции. Интенсивность флуоресценции в планшетах с адсорбированным IG доменом AXL человека измеряли через 15 минут после добавления раствора флуоресцентного субстрата с использованием прибора SpectraMax M5 (производство Molecular Devices Corp.). В результате проведения ELISA было установлено, что только hAXL26-220 и NHis-hAXL 129-220 обладают связывающей активностью. Таким образом, было показано, что эпитоп для моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека находится в расположенном ближе к C-концу IG домене из двух IG доменов AXL человека (домен, который включает аминокислотные остатки Nos. 129-220 в Базе Данных белков NCBI ACCESSION No. P\_30530: SEQ ID NO:139; Фигура 30A) (Фигура 26).

Пример 17: Гуманизированные антитела против AXL настоящего изобретения ингибируют лиганд-индуцированное фосфорилирование AXL *in vitro*

Белок, кодируемый геном 6 специфической задержки пролиферации, Gas6, представляет собой природный лиганд рецепторной тирозинкиназы AXL. Связывание Gas6 с AXL приводит к активации рецептора, что проявляется в увеличенных уровнях фосфорилирования рецепторной тирозинкиназы. Эксперименты, описанные в Примере 17, были проведены для оценки влияния, которое оказывают гуманизированные антитела против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 настоящего изобретения на опосредуемую Gas6 активацию рецепторной тирозинкиназы AXL.

Пример 17.1: Гуманизированные антитела против AXL настоящего изобретения ингибируют лиганд-индуцированное фосфорилирование AXL *in vitro* как определено методом ELISA

Для выяснения вопроса, способны ли гуманизированные антитела против AXL настоящего изобретения блокировать лиганд Gas6-индуцируемое фосфорилирование AXL, были проведены эксперименты ELISA. Вкратце, в день 1 клетки в количестве  $3 \times 10^4$  на лунку были высеваны в нормальную среду роста в плоскодонные 96-луночные планшеты. На следующий день среда роста была заменена на бессывороточную среду для того, чтобы клетки голодали в течение 24 часов. Также через день черные 96-луночные планшеты Maxi-Sorp (Nunc) были покрыты антителами мыши 4G10 против фосфотирозина в концентрации 2 мкг/мл PBS при 4°C. В день 3 раствор антител 4G10 был удален, и лунки Maxi-Sorp были заблокированы раствором PBS, 0,5% БСА, по меньшей мере, в течение 4 часов при комнатной температуре. Параллельно с этим клетки проинкубировали с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard (Sigma), химерного антитела против AXL mAb #11B7, а также гуманизированных антител против

AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 в течение 3 часов при 37°C, после чего обрабатывали или не обрабатывали 400 нг/мл Gas6 (R&D Systems) в течение 15 минут при 37°C. После этого среду удаляли и лизировали клетки в лизирующем буфере (50 мМ HEPES, pH 7,5, 150 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА, 10% глицерин и 1% Тритон X-100) с добавлением ингибиторов фосфатаз и протеаз (10 мМ Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 1 мМ фенилметилсульфонилфторид, 1 мМ ортованадат, 1 мМ NaF и 0,5% аprotинин) в течение 30 мин на льду. В это время из планшетов удаляли блокирующий буфер и планшеты Maxi-Sorp промывали 6 раз буфером для промывки (PBS, 0,05% Tween 20), после чего вносили клеточные лизаты и инкубировали в течение ночи при 4°C. После того, как в день 4 планшеты промывали 6 раз буфером для промывки, лунки инкубировали с биотинилированным антителом крысы 12B7 против AXL в концентрации 0,5 мкг/мл PBS в течение 2 часов при комнатной температуре. Планшеты промывали 6 раз буфером для промывки и в каждую лунку добавляли AP-конъюгированный стрептавидин (Chemicon #SA110), разведенный 1:4000 в PBS, и планшеты инкубировали 30 минут при комнатной температуре. После этого лунки промывали 6 раз буфером для промывки и добавляли в них раствор субстрата AttoPhos (Roche #11681982). С использованием флуориметра Victor plate reader (Perkin Elmer) регистрировали флуоресценцию в каждой лунке при длине волны возбуждающего света 430 нм и длине волны испускаемого света 580 нм.

Фигура 27 показывает репрезентативные результаты этого эксперимента для клеток рака молочной железы Hs578T. По сравнению с контрольным антителом Gammagard, химерное антитело #11B7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 настоящего изобретения были способны блокировать или достоверно снижать Gas6-опосредуемую активацию AXL в клетках рака молочной железы Hs578T, что видно по снижению уровней фосфорилирования тирозина в AXL. Аналогичные эффекты с той же панелью антител наблюдались в фибробластах NIH3T3-AXL c1. 7, сверхэкспрессирующих AXL, клеточной линии NCI-H292 рака легких, клеточной линии C-8161 меланомы и клеточных линиях PC-3 и DU-145 рака простаты.

Пример 17.2: Гуманизированные антитела против AXL настоящего изобретения ингибируют лиганд-индуцируемое фосфорилирование AXL *in vitro* как показано методом Вестерн-Блоттинг

Кроме того, для подтверждения способности гуманизированных антител оказывать влияние на лиганд Gas6-индуцируемую активацию AXL, был проведен Вестерн-Блот анализ. Для этого клетки рака молочной железы Hs578T в количестве  $1,5 \times 10^6$  были посеяны на 10 см культуральные чашки Петри в день 1. На следующий день среда была заменена на бессывороточную среду для того, чтобы клетки голодали в течение 24 часов. В день 3 клетки преинкубировали с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard (Sigma), химерного mAb #11B7 против AXL и гуманизированных антител против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 в течение 3 часов при 37°C, и далее обрабатывали или не обрабатывали 400 нг/мл Gas6 (R&D Systems) в течение 15 минут при 37°C. После этого среду удаляли и лизировали клетки в 1 мл лизирующего буфера (50 мМ HEPES, pH 7,5, 150 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА, 10% глицерин и 1% Тритон X-100) с добавлением ингибиторов фосфатаз и протеаз (10 мМ Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 1 мМ фенилметилсульфонилфторид, 1 мМ ортованадат, 1 мМ NaF и 0,5% аprotинин) в течение 30 мин на льду, и удаляли обломки клеток центрифугированием в течение 10 мин при 10000 × g и 4°C. Для проведения иммунопреципитации определили концентрацию белка

в супернатантах и 500 мкг общих лизатов клеток инкубировали с 30 мкл суспензии Протеин А-сефарозы и 1 мкг моноклонального антитела крысы 12В7 против AXL при вращении в течение 3 часов при 4°C. Преципитаты промывали три раза 0,7 мл холодного буфера HNTG (20 mM HEPES pH 7,5, 150 mM NaCl, 0,1% Тритон-Х-100, 10% глицерин и 10 mM Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), суспендировали и кипятили в 40 мкл 3-кратного буфера для образцов по Леммли, после чего проводили SDS-электрофорез в ПААГ. Для проведения Вестерн-Блот анализа белки переносили на нитроцеллюлозную мембрану. После этого мембрану блокировали NET-Желатином и инкубировали с первичным моноклональным антителом мыши против фосфотирозина 4G10 (Upstate) в течение ночи. На следующий день мембрану промывали 3 раза NET-Желатином и инкубировали с HRP-конъюгированными вторичными анти-мышинными антителами в течение 1 часа при комнатной температуре, после чего снова промывали 3 раза NET-Желатином. Далее мембраны экспонировали с пленками (Kodak) с использованием набора для определения хемилюминесценции согласно инструкциям производителя (GE Healthcare). После этого те же самые мембраны были повторно проанализированы с использованием антитела против AXL.

Фигура 27 показывает репрезентативные результаты этого эксперимента. По сравнению с контрольным антителом Gammagard, химерное антитело #11В7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#11В7-Т2, h#11В7-Т3, h#11В7-Т4, h#11В7-Т5 и h#11В7-Т6 настоящего изобретения были способны блокировать или достоверно снижать Gas6-опосредуемую активацию AXL в клетках рака молочной железы Hs578Т, что видно по снижению уровней фосфорилирования тирозина в AXL.

Пример 18: Гуманизированные антитела против AXL настоящего изобретения ингибируют лиганд-индуцируемое фосфорилирование нижележащих сигнальных молекул в сигнальном пути AXL *in vitro*

Gas6-индуцируемая активация рецепторной тирозинкиназы AXL выражается не только в повышенных уровнях фосфорилирования тирозина самого AXL, но также приводит к индукции расположенных ниже сигнальных каскадов, включая сигнальные пути с участием ERK1/2 и PKB/AKT. Таким образом, были продолжены эксперименты для выяснения способности гуманизированных антител против AXL h#11В7-Т2, h#11В7-Т3, h#11В7-Т4, h#11В7-Т5 и h#11В7-Т6 настоящего изобретения подавлять Gas6-опосредуемую активацию ERK1 и ERK2, а также AKT. Более того, мы обнаружили, что уровень фосфорилирования сигнальных молекул GSK-3 $\beta$ , TSC2, mTOR и S6K1 также модулируется при стимуляции Gas6, поэтому мы проанализировали ингибиторное действие гуманизированных антител против AXL h#11В7-Т2, h#11В7-Т3, h#11В7-Т4, h#11В7-Т5 и h#11В7-Т6 настоящего изобретения также и на эти молекулы.

Пример 18.1: Гуманизированные антитела 11В7 против AXL настоящего изобретения ингибируют лиганд-индуцируемое фосфорилирование ERK1/2 *in vitro*

Для изучения способности гуманизированных антител настоящего изобретения оказывать влияние на Gas6-индуцируемую активацию ERK1/2, был проведен Вестерн-Блот анализ. Gas6-опосредуемая активация ERK1/2 проявляется в повышенных уровнях фосфорилирования этого белка по положениям Thr202 и Tyr204. С этой целью клетки рака молочной железы Hs578Т в количестве 5×10<sup>6</sup> или клетки рака легких NCI-H292 в количестве 3×10<sup>6</sup> были высеваны на 10 см культуральные чашки Петри в день 1. На следующий день среда роста была заменена на бессывороточную среду для того, чтобы клетки голодали в течение 24 часов. В день 3 клетки преинкубировали с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard (Baxter), химерного mAb chm11В7 против AXL и гуманизированных антител против AXL h#11В7-Т2, h#11В7-Т3, h#11В7-Т4, h#11В7-Т5

и h#11B7-T6 в течение 3 часов при 37°C, и далее обрабатывали или не обрабатывали 400 нг/мл Gas6 (R&D Systems) в течение 15 минут при 37°C. После этого среду удаляли и лизировали клетки в 800 мкл лизирующего буфера (50 mM HEPES, pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 mM ЭДТА, 10% глицерин и 1% Тритон X-100) с добавлением ингибиторов фосфатаз и протеаз (10 mM Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 1 mM фенилметилсульфонилфторид, 1 mM ортованадат, 1 mM NaF и 0,5% аprotинин) в течение 30 мин на льду, и удаляли обломки клеток центрифугированием в течение 10 мин при 10000 × g и 4°C. Определяли концентрацию белка в супернатантах и 50 мкг общих лизатов клеток суспендировали и кипятили в 3-кратном буфере для образцов по Леммли, после чего проводили SDS-электрофорез в ПААГ. После переноса белков на нитроцеллюлозную мембрану, мембрану блокировали NET-Желатином и инкубировали с первичным поликлональным антителом кролика против фосфо-p44/42 MAP-киназы (Thr202/Tyr204) (Cell Signaling Technologies, #9101) в течение ночи. На следующий день мембрану промывали 3 раза NET-Желатином, инкубировали с HRP-конъюгированными вторичными анти-кроличьими антителами (Dianova, #111-036-045) в течение 1 часа при комнатной температуре и снова промывали 3 раза NET-Желатином. Далее мембраны экспонировали с пленками (Kodak) с использованием набора для определения хемилюминесценции согласно инструкциям производителя (GE Healthcare). После этого те же самые мембраны были повторно проанализированы с использованием антитела против p44/42 MAP-киназы (Santa Cruz K-23, #sc-153).

Фигура 28А показывает репрезентативные результаты этого эксперимента. По сравнению с контрольным антителом Gammagard, химерное антитело chm11B7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 настоящего изобретения были способны влиять на слабое Gas6-индуцируемое увеличение активации ERK1/2 в клетках рака молочной железы Hs578T. Однако вследствие высокой базальной активности ERK1/2 в этой клеточной линии, эти эффекты, которые проявляются в пониженных уровнях фосфорилирования ERK1/2 Thr202/Tyr204 в Gas6-стимулированных по сравнению с соответствующими нестимулированными клетками, выглядят только относительно слабыми (вверху). В противоположность этому, ингибиторные эффекты химерного антитела против AXL chm11B7 и гуманизированных антител против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 или h#11B7-T6 на фосфорилирование ERK1/2 Thr202/Tyr204 значительно более отчетливо видны на клеточной линии рака легких NCI-H292 (внизу).

Пример 18.2: Гуманизированные антитела 11B7 против AXL настоящего изобретения ингибируют лиганд-индуцируемое фосфорилирование АКТ in vitro

Для изучения способности гуманизированных антител настоящего изобретения оказывать влияние на Gas6-индуцируемую активацию АКТ, был проведен Вестерн-Блот анализ. Gas6-опосредуемая активация АКТ проявляется в повышенных уровнях фосфорилирования этого белка по положению Ser473. С этой целью этого клетки рака молочной железы Hs578T в количестве 5×10<sup>6</sup> или клетки рака легких NCI-H292 в количестве 3×10<sup>6</sup> были высеяны на 10 см культуральные чашки Петри в день 1. На следующий день среда роста была заменена на бессывороточную среду для того, чтобы клетки голодали в течение 24 часов. В день 3 клетки проинкубировали с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard (Baxter), химерного mAb chm11B7 против AXL или гуманизированных антител против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 в течение 3 часов при 37°C, и далее обрабатывали или не обрабатывали 400 нг/мл Gas6 (R&D Systems) в течение 15 минут при 37°C. После этого среду удаляли

и лизировали клетки в 800 мкл лизирующего буфера (50 mM HEPES, pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 mM ЭДТА, 10% глицерин и 1% Тритон X-100) с добавлением ингибиторов фосфатаз и протеаз (10 mM  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , 1 mM фенилметилсульфонилфторид, 1 mM ортованадат, 1 mM NaF и 0,5% аprotинин) в течение 30 мин на льду, и удаляли обломки клеток центрифугированием в течение 10 мин при  $10000 \times g$  и  $4^\circ\text{C}$ . Определяли концентрацию белка в супернатантах и 50 мкг общих лизатов клеток суспендировали и кипятили в 3-кратном буфере для образцов по Леммли, после чего проводили SDS-электрофорез в ПААГ. После переноса белков на нитроцеллюлозную мембрану, мембрану блокировали NET-Желатином и инкубировали с первичными поликлональными антителами кролика против АКТ1/2/3 (Cell Signaling Technologies, #9272) в течение ночи. На следующий день мембрану промывали 3 раза NET-Желатином, инкубировали с HRP-конъюгированными вторичными анти-кроличьими антителами (Dianova, #111-036-045) в течение 1 часа при комнатной температуре и снова промывали 3 раза NET-Желатином. Далее мембраны экспонировали с пленками (Kodak) с использованием набора для определения хемилюминесценции согласно инструкциям производителя (GE Healthcare). После этого те же самые мембраны были повторно проанализированы с использованием антитела против фосфо-АКТ (Ser473) (Cell Signaling Technologies, #9271).

Фигура 28В показывает репрезентативные результаты этого эксперимента. По сравнению с контрольным антителом Gammagard, химерное антитело chm11B7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 настоящего изобретения были способны достоверно снижать Gas6-индуцируемую активацию АКТ в клетках рака молочной железы Hs578T (вверху) и клетках рака легких NCI-H292 (внизу), что видно по сниженным уровням фосфорилирования АКТ Ser473 в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими нестимулированными клетками.

Пример 18.3. Гуманизированные антитела 11B7 против AXL настоящего изобретения ингибируют лиганд-индуцируемое фосфорилирование GSK-3 $\beta$  *in vitro*

Для изучения способности гуманизированных антител настоящего изобретения оказывать влияние на Gas6-индуцируемую активацию GSK-3 $\beta$ , которая проявляется в повышенных уровнях фосфорилирования этого белка по положению Ser9, был проведен Вестерн-Блот анализ. Для этого клетки рака молочной железы Hs578T в количестве  $5 \times 10^6$  или клетки рака легких NCI-H292 в количестве  $3 \times 10^6$  были посеяны на 10 см культуральные чашки Петри в день 1. На следующий день среда роста была заменена на бессывороточную среду для того, чтобы клетки голодали в течение 24 часов. В день 3 клетки преинкубировали с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard (Baxter), химерного mAb chm11B7 против AXL или гуманизированных антител против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 в течение 3 часов при  $37^\circ\text{C}$ , и далее обрабатывали или не обрабатывали 400 нг/мл Gas6 (R&D Systems) в течение 15 минут при  $37^\circ\text{C}$ . После этого среду удаляли и лизировали клетки в 800 мкл лизирующего буфера (50 mM HEPES, pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 mM ЭДТА, 10% глицерин и 1% Тритон X-100) с добавлением ингибиторов фосфатаз и протеаз (10 mM  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , 1 mM фенилметилсульфонилфторид, 1 mM ортованадат, 1 mM NaF и 0,5% аprotинин) в течение 30 мин на льду, и удаляли обломки клеток центрифугированием в течение 10 мин при  $10000 \times g$  и  $4^\circ\text{C}$ . Определяли концентрацию белка в супернатантах и 50 мкг общих лизатов клеток суспендировали и кипятили в 3-кратном буфере для образцов по Леммли, после чего проводили SDS-электрофорез в ПААГ. После переноса белков на

нитроцеллюлозную мембрану, мембрану блокировали NET-Желатином и инкубировали с первичным поликлональным антителом кролика против фосфо-GSK-3 $\beta$  (Ser9) (Cell Signaling Technologies, #9336) в течение ночи. На следующий день мембрану промывали 3 раза NET-Желатином, инкубировали с HRP-конъюгированными вторичными анти-кроличьими антителами (Dianova, #111-036-045) в течение 1 часа при комнатной температуре и снова промывали 3 раза NET-Желатином. Далее мембраны экспонировали с пленками (Kodak) с использованием набора для определения хемилюминесценции согласно инструкциям производителя (GE Healthcare). После этого те же самые мембраны были повторно исследованы с использованием антитела против GSK-3 $\beta$  (Becton Dickinson, #610201) и HRP-конъюгированного вторичного анти-мышинного антитела (Dianova, #315-036-045).

Фигура 28С показывает репрезентативные результаты этого эксперимента. По сравнению с контрольным антителом Gammagard, химерное антитело chm11B7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 настоящего изобретения были способны достоверно снижать Gas6-индуцируемую активацию GSK-3 $\beta$  в клетках рака молочной железы Hs578T (вверху) и клетках рака легких NCI-H292 (внизу), что видно по сниженным уровням фосфорилирования GSK-3 $\beta$  Ser9 в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими нестимулированными клетками.

Пример 18.4: Гуманизированные антитела 11B7 против AXL настоящего изобретения ингибируют лиганд-индуцируемое фосфорилирование TSC2 *in vitro*

Для изучения способности гуманизированных антител настоящего изобретения оказывать влияние на Gas6-индуцируемое PI3K/Gas6-опосредуемое фосфорилирование TSC2 по аминокислотному остатку этого белка Thr1462, был проведен Вестерн-Блот анализ. Фосфорилирование TSC2 по Thr1462 обычно ассоциировано с ингибированием функции супрессора опухолей - комплекса TSC, и, вследствие этого, с активацией лежащего ниже сигнального пути mTOR. Вкратце, клетки рака молочной железы Hs578T в количестве  $5 \times 10^6$  или клетки рака легких NCI-H292 в количестве  $3 \times 10^6$  были высеваны на 10 см культуральные чашки Петри в день 1. На следующий день среда роста была заменена на бессывороточную среду для того, чтобы клетки голодали в течение 24 часов. В день 3 клетки преинкубировали с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard (Baxter), химерного mAb chm11B7 против AXL и гуманизированных антител против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 в течение 3 часов при 37°C и далее обрабатывали или не обрабатывали 400 нг/мл Gas6 (R&D Systems) в течение 15 минут при 37°C. После этого среду удаляли и лизировали клетки в 800 мкл лизирующего буфера (50 mM HEPES, pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 mM ЭДТА, 10% глицерин и 1% Тритон X-100) с добавлением ингибиторов фосфатаз и протеаз (10 mM Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 1 mM фенилметилсульфонилфторид, 1 mM ортованадат, 1 mM NaF и 0,5% аprotинин) в течение 30 мин на льду, и удаляли обломки клеток центрифугированием в течение 10 мин при 10000  $\times$  g и 4°C. Определяли концентрацию белка в супернатантах и 50 мкг общих лизатов клеток суспендировали и кипятили в 3-кратном буфере для образцов по Леммли, после чего проводили SDS-электрофорез в ПААГ. После переноса белков на нитроцеллюлозную мембрану, мембрану блокировали NET-Желатином и инкубировали с первичными поликлональными антителами кролика против TSC2 (Cell Signaling Technologies, #3612) в течение ночи. На следующий день мембрану промывали 3 раза NET-Желатином, инкубировали с HRP-конъюгированными вторичными анти-кроличьими антителами (Dianova, #111-036-045) в течение 1 часа при комнатной температуре и снова промывали 3 раза NET-Желатином. Далее мембраны экспонировали

с пленками (Kodak) с использованием набора для определения хемилюминесценции согласно инструкциям производителя (GE Healthcare). После этого те же самые мембраны были повторно исследованы с использованием антитела против фосфо-TSC2 (Thr1462) (Cell Signaling Technologies, #3617).

5       Фигура 28D показывает репрезентативные результаты этого эксперимента. По сравнению с контрольным антителом Gammagard, химерное антитело chm11B7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 настоящего изобретения были способны достоверно снижать Gas6-индуцируемое фосфорилирование TCS2 по Thr1462 в клетках рака молочной  
10       железы Hs578T (вверху) и клетках рака легких NCI-H292 (внизу), что видно по сниженным уровням фосфорилирования этого аминокислотного остатка в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими нестимулированными клетками.

Пример 18.5: Гуманизированные антитела 11B7 против AXL настоящего изобретения  
15       ингибируют лиганд-индуцируемое фосфорилирование mTOR in vitro

Учитывая эффекты на фосфорилирование TSC2, для изучения способности гуманизированных антител настоящего изобретения оказывать влияние на Gas6-индуцируемую активацию mTOR, был проведен Вестерн-Блот анализ. Gas6-опосредуемая активация mTOR проявляется в повышенных уровнях фосфорилирования этого белка  
20       по положению Ser2448. С этой целью рака молочной железы Hs578T в количестве  $5 \times 10^6$  или клетки рака легких NCI-H292 в количестве  $3 \times 10^6$  в день 1 были высеяны на культуральные чашки Петри диаметром 10 см. На следующий день среда роста была заменена на бессывороточную среду для того, чтобы клетки голодали в течение 24  
25       часов. В день 3 клетки преинкубировали с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard (Baxter), химерного mAb chm11B7 против AXL и гуманизированных антител против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 в течение 3 часов при 37°C, и далее обрабатывали или не обрабатывали 400 нг/мл Gas6 (R&D Systems) в течение 15 минут при 37°C. После этого среду удаляли и лизировали клетки в 800 мкл  
30       лизирующего буфера (50 мМ HEPES, pH 7,5, 150 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА, 10% глицерин и 1% Тритон X-100) с добавлением ингибиторов фосфатаз и протеаз (10 мМ  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , 1 мМ фенилметилсульфонилфторид, 1 мМ ортованадат, 1 мМ NaF и 0,5% аprotинин) в течение 30 мин на льду, и удаляли обломки клеток центрифугированием в течение 10 мин при  $10000 \times g$  и 4°C. Определяли концентрацию белка в супернатантах и 50 мкг  
35       общих лизатов клеток суспендировали и кипятили в 3-кратном буфере для образцов по Леммли, после чего проводили SDS-электрофорез в ПААГ. После переноса белков на нитроцеллюлозную мембрану, мембрану блокировали NET-Желатином и инкубировали с первичными поликлональными антителами кролика против фосфо-mTOR (Ser2448) (Cell Signaling Technologies, #2971) в течение ночи. На следующий день  
40       мембрану промывали 3 раза NET-Желатином, инкубировали с HRP-конъюгированными вторичными анти-кроличьими антителами (Dianova, #111-036-045) в течение 1 часа при комнатной температуре и снова промывали 3 раза NET-Желатином. Далее мембраны экспонировали с пленками (Kodak) с использованием набора для определения хемилюминесценции согласно инструкциям производителя (GE Healthcare). После этого  
45       те же самые мембраны были повторно проанализированы с использованием антитела против mTOR киназы (Cell Signaling Technologies, #2972).

Фигура 28Е показывает репрезентативные результаты этого эксперимента. Ингибиторные эффекты антител против AXL были относительно слабыми в клетках



рака молочной железы Hs578T (вверху). Однако, по сравнению с контрольным антителом Gammagard, химерное антитело chm11B7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 настоящего изобретения были способны подавлять Gas6-индуцируемую активацию mTOR в клетках рака легких NCI-H292, что видно по сниженным уровням фосфорилирования mTOR Ser2448 в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими нестимулированными клетками (внизу).

Пример 18.6: Гуманизированные антитела 11B7 против AXL настоящего изобретения ингибируют лиганд-индуцируемое фосфорилирование S6K1 *in vitro*

Наконец, для изучения способности гуманизированных антител настоящего изобретения оказывать влияние на Gas6-индуцируемую активацию S6K1, был проведен Вестерн-Блот анализ. Gas6-опосредуемая активация S6K1 проявляется в повышенных уровнях фосфорилирования этого белка по положениям Thr421 и Ser424. Для этого клетки рака молочной железы Hs578T в количестве  $5 \times 10^6$  или клетки рака легких NCI-H292 в количестве  $3 \times 10^6$  в день 1 были посеяны на 10 см культуральные чашки Петри. На следующий день среда роста была заменена на бессывороточную среду для того, чтобы клетки голодали в течение 24 часов. В день 3 клетки проинкубировали с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard (Baxter), химерного mAb chm11B7 против AXL и гуманизированных антител против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 в течение 3 часов при 37°C, и далее обрабатывали или не обрабатывали 400 нг/мл Gas6 (R&D Systems) в течение 15 минут при 37°C. После этого среду удаляли и лизировали клетки в 800 мкл лизирующего буфера (50 mM HEPES, pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 mM ЭДТА, 10% глицерин и 1% Тритон X-100) с добавлением ингибиторов фосфатаз и протеаз (10 mM  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , 1 mM фенолметилсульфонилфторид, 1 mM ортованадат, 1 mM NaF и 0,5% аprotинин) в течение 30 мин на льду, и удаляли обломки клеток центрифугированием в течение 10 мин при  $10000 \times g$  и 4°C. Определяли концентрацию белка в супернатантах и 50 мкг общих лизатов клеток суспендировали и кипятили в 3-кратном буфере для образцов по Леммли, после чего проводили SDS-электрофорез в ПААГ. После переноса белков на нитроцеллюлозную мембрану, мембрану блокировали NET-Желатином и инкубировали с первичными поликлональными антителами кролика против фосфо-p70 S6 Киназы 1 (Thr421/Ser424) (Cell Signaling Technologies, #9204) в течение ночи. На следующий день мембрану промывали 3 раза NET-Желатином, инкубировали с HRP-конъюгированными вторичными анти-кроличьими антителами (Dianova, #111-036-045) в течение 1 часа при комнатной температуре и снова промывали 3 раза NET-Желатином. Далее мембраны экспонировали с пленками (Kodak) с использованием набора для определения хемилюминесценции согласно инструкциям производителя (GE Healthcare). После этого те же самые мембраны были повторно исследованы с использованием антитела против  $\beta$ -актина (Cell Signaling Technologies, #4967).

Фигура 28F показывает репрезентативные результаты этого эксперимента. По сравнению с контрольным антителом Gammagard, химерное антитело chm11B7 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 настоящего изобретения показали некоторые ингибиторные эффекты на Gas6-индуцируемую активацию S6K1 в клетках рака молочной железы Hs578T, что видно по сниженным уровням фосфорилирования mTOR S6K1 Thr421/Ser424 в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими нестимулированными клетками (вверху). Однако значительно более сильное снижение

Gas6-индуцированного фосфорилирования S6K1 Thr421/Ser424, и как следствие, активацию при предварительной обработке химерным антителом chm11B7 против AXL и гуманизированными антителами против AXL h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 настоящего изобретения можно видеть в клетках рака легких NCI-H292 (внизу).

Пример 19: Гуманизированные антитела против AXL 11D5 настоящего изобретения ингибируют лиганд-индуцируемое фосфорилирование AXL *in vitro*, как показано методом ELISA

Помимо характеристики серии гуманизированных антител mAb h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5 и h#11B7-T6 против AXL, были проведены эксперименты ELISA для исследования способности гуманизированных антител против AXL h#11D5-T2, h#11D5-T3, h#11D5-T4, h#11D5-T5 и h#11D5-T6 настоящего изобретения подавлять Gas6-индуцируемое фосфорилирование и, следовательно, активацию рецепторной тирозинкиназы AXL.

Вкратце, в день 1 клетки рака молочной железы Hs578T в количестве  $3 \times 10^4$  были засеяны в нормальную среду роста в плоскодонные 96-луночные планшеты. На следующий день среда роста была заменена на бессывороточную среду для того, чтобы клетки голодали в течение 24 часов. Также на следующий день лунки 96-луночных планшетов Maxi-Sorp 96 (Nunc) были покрыты антителами мыши против фосфотирозина 4G10 в концентрации 2 мкг/мл в PBS при 4°C. В день 3 раствор антител 4G10 был удален, и лунки Maxi-Sorp были заблокированы блокирующим буфером (PBS, 0,5% БСА) в течение, по меньшей мере, 4 часов при комнатной температуре. Параллельно с этим, клетки были преинкубированы с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard (Baxter), химерного mAb chm11D5 против AXL и гуманизированных антител против AXL h#11D5-T2, h#11D5-T3, h#11D5-T4, h#11D5-T5 и h#11D5-T6 в течение 3 часов при 37°C, после чего были обработаны или не обработаны 400 нг/мл Gas6 (R&D Systems) в течение 15 минут при 37°C. После этого среду удаляли и лизировали клетки в лидирующем буфере в количестве 110 мкл/лунку (50 мМ HEPES, pH 7,5, 150 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА, 10% глицерин и 1% Тритон X-100) с добавлением ингибиторов фосфатаз и протеаз (10 мМ  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , 1 мМ фенилметилсульфонилфторид, 1 мМ ортованадат, 1 мМ NaF и 0,5% аprotинин) в течение 30 мин на льду. В это время удаляли блокирующий буфер и планшеты Maxi-Sorp промывали 6 раз буфером для промывки (PBS, 0,05% Tween 20), после чего в лунки вносили 100 мкл клеточных лизатов и инкубировали в течение ночи при 4°C. После того, как планшеты промывали 6 раз буфером для промывки в день 4, лунки инкубировали с биотинилированным антителом крысы 12B7 против AXL в концентрации 0,125 мкг/мл буфера для разведения (20 мМ Tris, 50 мМ NaCl, pH 7,3, 0,05% Tween 20, 0,1% БСА) в течение 2 часов при комнатной температуре. Планшеты промывали 6 раз буфером для промывки и в каждую лунку добавляли AP-конъюгированный стрептавидин (Chemicon #SA110), разведенный 1:20000 в буфере для разведения, и инкубировали 30 минут при комнатной температуре. После этого лунки промывали 6 раз буфером для промывки и добавляли в них раствор субстрата AttoPhos (Roche #11681982). С использованием флуориметра SpectraMax-GeminiEM plate reader (Molecular Devices) регистрировали флуоресценцию в каждой лунке при длине волны возбуждающего света 430 нм и длине волны испускаемого света 580 нм.

Фигура 29 показывает репрезентативные результаты этого эксперимента. По сравнению с контрольным антителом Gammagard, химерное антитело chm11D5 против AXL и гуманизированные антитела против AXL h#11D5-T2, h#11D5-T3, h#11D5-T4, h#11D5-T5 и h#11D5-T6 настоящего изобретения были способны блокировать или

достоверно снижать Gas6-опосредуемую активацию, что видно по снижению уровней фосфорилирования тирозина в AXL в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими нестимулированными клетками.

Пример 20: Антитела крысы и химерные антитела против AXL настоящего изобретения ингибируют лиганд-индуцируемое фосфорилирование AXL *in vitro* в одинаковой степени

Химерные производные антител крысы против AXL 11B7 и 11D5 были получены как часть настоящего изобретения (смотри выше). Для изучения вопроса, способны ли антитела крысы против AXL настоящего изобретения и соответствующие химерные антитела против AXL настоящего изобретения ингибировать лиганд Gas6-опосредуемую активацию AXL *in vitro* в одинаковой степени, были проведены эксперименты ELISA с использованием клеток рака шейки матки CaSki. Опосредуемая Gas6 активация AXL выявлялась по увеличению фосфорилирования тирозина в рецепторе. Вкратце, в первый день клетки в количестве  $3 \times 10^4$  были высеяны в нормальной среде роста в плоскодонные 96-луночные планшеты. На следующий день среда роста была заменена на бессывороточную среду для того, чтобы клетки голодали в течение 24 часов. Также на следующий день лунки черных 96-луночных планшетов Maxi-Sorp 96 (Nunc) были покрыты антителами мыши против фосфотирозина 4G10 в концентрации 2 мкг/мл в PBS при 4°C. В день 3 раствор антител 4G10 был удален, и лунки Maxi-Sorp были заблокированы PBS, 0,5% БСА в течение, по меньшей мере, 4 часов при комнатной температуре. Параллельно с этим, клетки были проинкубированы с 50 нг/мл, 100 нг/мл, 300 нг/мл, 750 нг/мл, 1 мкг/мл и 10 мкг/мл антитела крысы AXL 11B7 или химерного антитела против AXL ch11B7 в течение 1 часа при 37°C, после чего были обработаны или не обработаны 400 нг/мл Gas6 (R&D Systems) в течение 10 минут при 37°C. После этого среду удаляли и лизировали клетки в лизирующем буфере в количестве 100 мкл/лунку (50 мМ HEPES, pH 7,5, 150 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА, 10% глицерин и 1% Тритон X-100) с добавлением ингибиторов фосфатаз и протеаз (10 мМ  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , 1 мМ фенилметилсульфонилфторид, 1 мМ ортованадат, 1 мМ NaF и 0,5% аprotинин) в течение 30 мин на льду. В это время удаляли блокирующий буфер, и планшеты Maxi-Sorp промывали 6 раз буфером для промывки (PBS, 0,05% Tween 20), после чего вносили в лунки клеточные лизаты и инкубировали в течение ночи при 4°C. После того, как планшеты промыли 6 раз буфером для промывки в день 4, лунки инкубировали с биотинилированным антителом крысы 12B7 против AXL в концентрации 0,5 мкг/мл PBS в течение 2 часов при комнатной температуре. Планшеты промывали 6 раз буфером для промывки и в каждую лунку добавляли AP-конъюгированный стрептавидин (Chemicon #SA110), разведенный 1:4000 в PBS, и инкубировали 30 минут при комнатной температуре. После этого лунки промывали 6 раз буфером для промывки и добавляли в них раствор субстрата AttoPhos (Roche #11681982). С использованием флуориметра Victor plate reader (Perkin Elmer) регистрировали флуоресценцию в каждой лунке при длине волны возбуждающего света 430 нм и длине волны испускаемого света 580 нм.

Фигура 31 показывает репрезентативные результаты этого эксперимента для клеточной линии рака шейки матки CaSki. Как видно из концентрационно-зависимого снижения относительного фосфорилирования AXL, антитело крысы против AXL 11B7 (A) и химерное антитело против AXL ch11B7 (B) настоящего изобретения, были способны блокировать лиганд-индуцируемую активацию рецепторной тирозинкиназы AXL в одинаковой степени. Сравнимые эффекты при использовании аналогичной постановки эксперимента наблюдались для клеточной линии меланомы C-8161.

Пример 21: Получение гена гуманизированного антитела моноклонального антитела

крысы #11B7 против AXL человека

а) Конструирование векторов для экспрессии легких цепей #11B7-T15L и h#11B7-T18L

Каждая ДНК, содержащая ген, кодирующий переменный участок легкой цепи #11B7-T15L или h#11B7-T18L (Фигура 32А), представленный аминокислотами Nos. от 21 до 129 последовательностей SEQ ID NO: 146 или 147 соответственно, Списка Последовательностей, слитый с сигналом секреции, была синтезирована (MBL Medical & Biological Laboratories Co., Ltd, Artificial Gene Synthesis Service) и расщеплена рестриктазами NheI и BsiWI. Полученные фрагменты ДНК были по отдельности  
 10 встроены в сайты универсальных векторов для экспрессии легких цепей гуманизированных антител (pEF6KCL), предварительно расщепленных рестриктазами NheI и BsiWI для конструирования векторов для экспрессии легких цепей h#11B7-T15L и h#11B7-T18L. Полученные экспрессионные векторы были обозначены как "pEF6KCL/h#11B7-T15L" или "pEF6KCL/h#11B7-T18L", и вставка каждого экспрессионного вектора  
 15 представлена нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO:144 или 145 из Списка Последовательностей соответственно.

б) Конструирование векторов для экспрессии тяжелых цепей h#11B7-T11H и h#11B7-T12H

Каждая ДНК, содержащая ген, кодирующий переменный участок тяжелой цепи h#11B7-T11H или h#11B7-T12H (Фигура 32В), представленный аминокислотами Nos. от 20 до 132 последовательностей SEQ ID NO: 150 или 151 соответственно, Списка Последовательностей, была синтезирована (MBL Medical & Biological Laboratories Co., Ltd, Artificial Gene Synthesis Service) и расщеплена эндонуклеазой рестрикции BlnI.  
 20 Полученные фрагменты ДНК были по отдельности встроены в сайты универсальных векторов для экспрессии тяжелых цепей гуманизированных антител (pEF1/FCCU-1), предварительно расщепленных эндонуклеазой рестрикции BlnI для конструирования векторов для экспрессии тяжелых цепей h#11B7-T11H и h#11B7-T12H. Полученные экспрессионные векторы были обозначены как "pEF1/FCCU/h#11B7-T11H" или "pEF1/FCCU/h#11B7-T12H", и вставка каждого экспрессионного вектора представлена  
 30 нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO:148 или 149, из Списка Последовательностей соответственно.

Пример 22: Получение гуманизированного антитела из моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека

а) Получение гуманизированного антитела

35 Смотри а) в Примере 10.

б) Очистка гуманизированного антитела

Культуральный супернатант, полученный в предшествующем параграфе а), был очищен аффинной хроматографией на колонке с Протеином А. Культуральный супернатант в количестве 100 мл помещали в колбу с крышкой объемом 500 мл, в  
 40 которую вносили 1 мл суспензии MabSelect SuRe (GE Healthcare Bio-science Ltd.) (50% суспензия), уравновешенной PBS. Смесь оставляли на ночь при перемешивании при 100 об/мин в инкубаторе при 10°C. Смесь Культуральный супернатант клеток FreeStyle 293-F/суспензия MabSelect SuRe вносили в пустую 5 мл колонку Zeba Spin Column, (PIERCE). После внесения всего носителя в колонку, колонку промывали 10 мл 1 М  
 45 NaCl. После этого был пропущен 1 мл 1 М раствора аргинина (pH 4,0) для сбора фракций, содержащих антитела. Фракции вносили в центрифужные пробирки Centrifugal Filter Device (Amicon Ultra-4, отсечение по молекулярному весу: 50 кДа, Millipore Corp.), заменяли раствор на цитратный буфер и доводили объем до 200 мкл для получения

очищенных образцов.

Гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T15L и pEF1/FCCU/h#11B7-T11H, было обозначено как "h#11B7-T28"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T18L и pEF1/FCCU/h#11B7-T11H, было обозначено как "h#11B7-T29"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T15L и pEF1/FCCU/h#11B7-T12H, было обозначено как "h#11B7-T30"; гуманизированное антитело #11B7, полученное комбинацией между pEF6KCL/h#11B7-T18L и pEF1/FCCU/h#11B7-T12H, было обозначено как "h#11B7-T31".

Таблица 2

| h#11B7     | плазмида Н            | плазмида L          |
|------------|-----------------------|---------------------|
| h#11B7-T28 | pEF1/FCCU/h#11B7-T11H | pEF6KCL/h#11B7-T15L |
| h#11B7-T29 | pEF1/FCCU/h#11B7-T11H | pEF6KCL/h#11B7-T18L |
| h#11B7-T30 | pEF1/FCCU/h#11B7-T12H | pEF6KCL/h#11B7-T15L |
| h#11B7-T31 | pEF1/FCCU/h#11B7-T12H | pEF6KCL/h#11B7-T18L |

Пример 23: Определение сродства гуманизированного антитела моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека к слитому белку AXL-Fc человека

Гуманизированные антитела от h#11B7-T28 до h#11B7-T31, полученные из моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека, были оценены по их сродству к AXL-Fc человека описанным ниже способом. AXL-Fc человека (производство R&D Systems, #154-AL) был растворен в PBS до концентрации 1 мкг/мл. После этого данный раствор вносили по 100 мкл/лунку в планшет Immuno Plate (производство Nalge Nunc International K.K., #437111) и инкубировали в течение ночи при 4°C для адсорбции белка на планшете. На следующий день лунки промывали 5 раз раствором PBS-T (PBS и 0,05% (по объему) Tween 20). После этого добавляли раствор, содержащий обезжиренное молоко (производство Morinaga Milk Industry Co., Ltd.), разведенное до 5% буфером PBS, в количестве 100 мкл/лунку и выдерживали при комнатной температуре в течение 2 часов. Растворы из лунок удаляли и промывали лунки 5 раз раствором PBS-T. После этого очищенные гуманизированные антитела от T28 до T31, полученные из моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека в Примере 10, по отдельности разводили до конечной концентрации от 1 мкг/мл до 0,00256 нг/мл (серии 5-кратных разведений) в растворе PBS, содержащем 0,5% обезжиренного молока. Затем этот раствор вносили в лунки в количестве 100 мкл/лунку и оставляли при комнатной температуре на 2 часа. В данном эксперименте концентрация каждого антитела определялась, как описано в Примере 15. Лунки промывали 5 раз раствором PBS-T. После этого добавляли конъюгированный с щелочной фосфатазой AffiniPure IgG козы против антител человека (производство Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., #109-055-097), разведенный в 2500 раз раствором TBS-T (TBS и 0,05% (по объему) Tween 20) в количестве 100 мкл/лунку и оставляли при комнатной температуре на 1 час. После этого растворы из лунок удаляли и промывали лунки 5 раз раствором TBS-T. После этого добавляли раствор флуоресцентного субстрата (производство Roche Diagnostics K.K., #11681982001) в количестве 100 мкл/лунку для проведения флуоресцентной реакции. Интенсивность флуоресценции в планшетах с адсорбированным AXL-Fc человека измеряли через 15 минут после добавления раствора флуоресцентного субстрата с использованием прибора SpectraMax M5 (производство Molecular Devices Corp.). В результате было установлено, что гуманизированные моноклональные антитела крысы против AXL человека от #11B7-T28 до h#11B7-T31 имеют связывающую активность, которая почти равна таковой химерного антитела человека к белку AXL-Fc человека,

зависимым от концентрации антител образом (Фигуры 19 и 33).

Пример 24: Анализ гуманизированных антител, полученных из моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека, методом ВЭЖХ

Концентрация белка гуманизированных антител от h#11B7-T28 до h#11B7-T31, полученных из моноклонального антитела крысы #11B7 против AXL человека, была определена методом, описанным ниже. Образцы каждого гуманизированного антитела инъецировали в колонку для эксклюзионной хроматографии (Tosoh SW 3000XL) и определяли концентрацию белка по данным ВЭЖХ (Agilent 1200 SL) по площади пика и коэффициенту поглощения для каждого антитела, используя в качестве стандарта образец tigatuzumab, гуманизированного моноклонального антитела типа IgG1 против DR5 человека. Концентрацию стандартного образца антитела tigatuzumab определяли методом прямого измерения поглощения, как описано в Примере 15. Результаты просуммированы на Фигуре 34.

Пример 25: Измерение термостабильности гуманизированных антител с использованием дифференциальной сканирующей калориметрии (differential scanning calorimetry, DSC)

Один из индексов для сравнения свойств антител может включать стабильность антител. Примеры индекса для стабильности антител могут включать термостабильность.

Антитела, имеющие низкую среднюю точку термоденатурации ( $T_m$ ) с высокой вероятностью будут денатурировать. Денатурированные антитела имеют склонность к агрегации и также, как считается, обладают повышенной антигенностью. Напротив, антитела, имеющие высокую  $T_m$ , менее склонны к денатурации (разворачиванию) или инактивации и могут быть приготовлены в виде растворимых композиций, которые могут стабильно храниться в течение длительного времени.

Дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC) является методом, который позволяет быстро и аккуратно измерить  $T_m$ , которая является хорошим показателем относительной структурной стабильности белков. Значения  $T_m$  могут быть измерены с использованием DSC и эти измеренные значения могут сравниваться для определения различий в термостабильности среди данных белков.

Была измерена термостабильность антител: h#11B7-T1, h#11B7-T2, h#11B7-T3, h#11B7-T4, h#11B7-T5, h#11B7-T6, h#11B7-T7, h#11B7-T8, h#11B7-T9, h#11B7-T10, h#11B7-T11, h#11B7-T12, h#11B7-T13, h#11B7-T14, h#11B7-T15, h#11B7-T16, h#11B7-T17, h#11B7-T18, h#11B7-T19, h#11B7-T20, h#11B7-T21, h#11B7-T22, h#11B7-T23, h#11B7-T24, h#11B7-T25, h#11B7-T26, h#11B7-T27, h#11B7-T28, h#11B7-T29, h#11B7-T30, h#11B7-T31 и химерного антитела 11B7.

Концентрация этих образцов была доведена до 0,5 мг/мл (раствор CBS), и аликвоты по 400 мкл были использованы в качестве растворов образцов для измерения DSC. Измерение DSC проводили в следующих условиях: исходная температура: 20°C, конечная температура: 100°C, скорость роста температуры: 60°C/1 час и время фильтрации: 10 секунд. В качестве раствора сравнения использовался раствор CBS. В качестве прибора для проведения DSC использовали VP-Capillary DSC Platform, производство MicroCal Inc., США. Коррекцию базовой линии проводили путем вычитания базовой линии (кривая сканирования раствора сравнения в измерительной ячейке) из кривых сканирования, полученных для растворов образцов.

Фигура 35(1) показывает термограмму h#11B7-T1; Фигура 35(2) показывает термограмму h#11B7-T2; Фигура 35(3) показывает термограмму h#11B7-T3; Фигура 35(4) показывает термограмму h#11B7-T4; Фигура 35(5) показывает термограмму h#11B7-

Т5; Фигура 35(6) показывает термограмму h#11B7-T6; Фигура 35(7) показывает термограмму h#11B7-T7; Фигура 35(8) показывает термограмму h#11B7-T8; Фигура 35(9) показывает термограмму h#11B7-T9; Фигура 35(10) показывает термограмму h#11B7-T10; Фигура 35(11) показывает термограмму h#11B7-T11;

5 Фигура 35(12) показывает термограмму h#11B7-T12; Фигура 35(13) показывает термограмму h#11B7-T13; Фигура 35(14) показывает термограмму h#11B7-T14;

Фигура 35(15) показывает термограмму h#11B7-T15; Фигура 35(16) показывает термограмму h#11B7-T16; Фигура 35(17) показывает термограмму h#11B7-T17;

10 Фигура 35(18) показывает термограмму h#11B7-T18; Фигура 35(19) показывает термограмму h#11B7-T19; Фигура 35(20) показывает термограмму h#11B7-T20;

Фигура 35(21) показывает термограмму h#11B7-T21; Фигура 35(22) показывает термограмму h#11B7-T22; Фигура 35(23) показывает термограмму h#11B7-T23;

Фигура 35(24) показывает термограмму h#11B7-T24; Фигура 35(25) показывает термограмму h#11B7-T25; Фигура 35(26) показывает термограмму h#11B7-T26;

15 Фигура 35(27) показывает термограмму h#11B7-T27; Фигура 35(28) показывает термограмму h#11B7-T28; Фигура 35(29) показывает термограмму h#11B7-T29;

Фигура 35(30) показывает термограмму h#11B7-T30; Фигура 35(31) показывает термограмму h#11B7-T31; и Фигура 35(32) показывает термограмму химерного антитела h#11B7.

20 В этом контексте значение вершины пика на всей термограмме было определено как средняя точка термоденатурации  $T_m$  участка Fab. В результате этого измерения установлено, что h#11B7-T1 имело  $T_m$  71,6°C; h#11B7-T2 имело  $T_m$  77,2°C; h#11B7-T3 имело  $T_m$  73,0°C; h#11B7-T4 имело  $T_m$  70,2°C; h#11B7-T5 имело  $T_m$  73,1°C; h#11B7-T6 имело  $T_m$  79,0°C; h#11B7-T7 имело  $T_m$  76,5°C; h#11B7-T8 имело  $T_m$  83,5°C; h#11B7-T9 имело  $T_m$  82,5°C; h#11B7-T10 имело  $T_m$  77,4°C; h#11B7-T11 имело  $T_m$  83,5°C; h#11B7-T12 имело  $T_m$  76,6°C; h#11B7-T13 имело  $T_m$  77,6°C; h#11B7-T14 имело  $T_m$  75,8°C; h#11B7-T15 имело  $T_m$  83,1°C; h#11B7-T16 имело  $T_m$  82,2°C; h#11B7-T17 имело  $T_m$  76,6°C; h#11B7-T18 имело  $T_m$  83,0°C; h#11B7-T19 имело  $T_m$  75,9°C; h#11B7-T20 имело  $T_m$  76,9°C; h#11B7-T21 имело  $T_m$  76,6°C; h#11B7-T22 имело  $T_m$  83,6°C; h#11B7-T23 имело  $T_m$  83,0°C; h#11B7-T24 имело  $T_m$  77,6°C; h#11B7-T25 имело  $T_m$  83,9°C; h#11B7-T26 имело  $T_m$  76,9°C; h#11B7-T27 имело  $T_m$  77,9°C; h#11B7-T28 имело  $T_m$  77,4°C; h#11B7-T29 имело  $T_m$  77,4°C; h#11B7-T30 имело  $T_m$  77,8°C; h#11B7-T31 имело  $T_m$  77,9°C; и химерное антитело h#11B7 имело  $T_m$  73,1°C.

35 Пример 26. Гуманизированные антитела 11B7 против AXL настоящего изобретения ингибируют лиганд-индуцируемое фосфорилирование AXL *in vitro*, как показано методом ELISA

Белок, кодируемый геном 6 специфической задержки пролиферации, Gas6, представляет собой природный лиганд рецепторной тирозинкиназы AXL. Связывание Gas6 с AXL приводит к активации рецептора, что отражается в увеличенных уровнях фосфорилирования рецепторной тирозинкиназы. Были проведены эксперименты ELISA для оценки способности гуманизированных антител против AXL 11B7-T5 и 11B7-T6, а также 11B7-T6-производных - 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 настоящего изобретения подавлять Gas6-индуцируемое фосфорилирование, и, следовательно, активацию рецепторной тирозинкиназы AXL.

45 Вкратце, в день 1 клетки в количестве  $3 \times 10^4$  на лунку были высеяны в нормальную среду роста в плоскодонные 96-луночные планшеты. На следующий день среда роста была заменена на бессывороточную среду для того, чтобы клетки голодали в течение 24 часов. Также через день черные 96-луночные планшеты Maxi-Sorp (Nunc) были

покрыты антителами мыши 4G10 против фосфотирозина в концентрации 2 мкг/мл PBS при 4°C. В день 3 раствор антител 4G10 был удален, и лунки Maxi-Sorp были заблокированы блокирующим буфером (PBS, 0,5% БСА), по меньшей мере, в течение 4 часов при комнатной температуре. Параллельно с этим клетки либо не обрабатывали, либо преинкубировали с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard (Baxter), а также гуманизированных антител h#11B7-T5, h#11B7-T6, h#11B7-T11, h#11B7-T23 и h#11B7-T25 против AXL в течение 1 часа при 37°C, после чего обрабатывали или не обрабатывали 400 нг/мл Gas6 (R&D Systems) в течение 15 минут при 37°C. После этого среду удаляли и лизировали клетки в 110 мкл лизирующего буфера/лунку (50 мМ HEPES, рН 7,5, 150 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА, 10% глицерин и 1% Тритон X-100) с добавлением ингибиторов фосфатаз и протеаз (10 мМ Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 1 мМ фенилметилсульфонилфторид, 1 мМ ортованадат, 1 мМ NaF и 0,5% аprotинин) в течение 30 мин на льду. В это время удаляли блокирующий буфер, и планшеты Maxi-Sorp промывали 6 раз буфером для промывки (PBS, 0,05% Tween 20), после чего вносили 100 мкл клеточных лизатов и инкубировали в течение ночи при 4°C. После того, как планшеты промыли 6 раз буфером для промывки в день 4, лунки инкубировали с биотинилированным антителом крысы 12B7 против AXL в концентрации 0,125 мкг/мл в буфере для разведения (20 мМ Tris, 50 мМ NaCl, рН 7,3, 0,05% Tween 20, 0,1% БСА) в течение 2 часов при комнатной температуре. Планшеты промывали 6 раз буфером для промывки и в каждую лунку добавляли АР-конъюгированный стрептавидин (Chemicon #SA110), разведенный 1:20000 в буфере для разведения, и инкубировали 30 минут при комнатной температуре. После этого лунки промывали 6 раз буфером для промывки и добавляли в них раствор субстрата AttoPhos (Roche #11681982). С использованием флуориметра SpectraMax-GeminiEM plate reader (Molecular Devices) регистрировали флуоресценцию в каждой лунке при длине волны возбуждающего света 430 нм и длине волны испускаемого света 580 нм.

Фигура 37 показывает репрезентативные результаты этого эксперимента для клеток рака молочной железы Hs578T (вверху) и клеток рака легких NCI-H292 (внизу). По сравнению с контрольным антителом Gammagard, гуманизированные антитела против AXL 11B7-T5, 11B7-T6, 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 настоящего изобретения достоверно снижают Gas6-опосредуемую активацию AXL в обеих линиях клеток, что видно по сниженным уровням фосфорилирования тирозина AXL в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими нестимулированными клетками.

Пример 27. Гуманизированные антитела 11B7 против AXL настоящего изобретения ингибируют лиганд-индуцируемое фосфорилирование АКТ in vitro, как показано методом ELISA

Кроме того, были проведены эксперименты ELISA для исследования вопроса, способны ли гуманизированные антитела против AXL 11B7-T5 и 11B7-T6, а также 11B7-T6-производные 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 настоящего изобретения блокировать лиганд Gas6-опосредуемую активацию АКТ-киназы. Gas6-опосредуемая активация АКТ-киназы определялась по увеличению фосфорилирования белка (Ser473).

Вкратце, в день 1 клетки в количестве  $2 \times 10^4$  на лунку высевались в плоскодонные 96-луночные планшеты. На следующий день нормальная среда роста была заменена на бессывороточную среду для того, чтобы клетки голодали в течение 36 часов. После этого клетки либо не обрабатывали, либо преинкубировали с 10 мкг/мл контрольного антитела Gammagard (Baxter), а также гуманизированных антител 11B7-T5, 11B7-T6, 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 против AXL в течение 1 часа при 37°C, после чего



обработывали или не обработывали 400 нг/мл Gas6 (R&D Systems) в течение 15 минут при 37°C. После этого среду удаляли, и клетки фиксировали 4% формальдегидом в PBS (pH 7,5) в течение 30 мин при комнатной температуре. Раствор формальдегида удаляли и клетки дважды промывали буфером для промывки (PBS, 0,1% Tween 20). Клетки тушили 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 0,1% NaN<sub>3</sub> в буфере для промывки и инкубировали 20 минут при комнатной температуре. После этого раствор для тушения удаляли, и клетки дважды промывали в буфере для промывки и блокировали PBS, 0,5% БСА в течение 4 часов при комнатной температуре. Были добавлены первичные антитела против фосфо-АКТ (Ser473) (поликлональные кролика, Cell Signaling #9271), разведенные 1:500 в PBS, 0,5% БСА, 5 мМ ЭДТА, и проведена инкубация в течение ночи при 4°C. В день 4 раствор антител удаляли и планшеты промывали 3 раза буфером для промывания. После этого в каждую лунку добавляли HRP-конъюгированные вторичные анти-кроличьи антитела (Dianova #111-036-045), разведенные 1:2500 в PBS, 0,5% БСА, и инкубировали 1,5 часа при комнатной температуре. Планшет промывали 3 раза буфером для промывки и два раза PBS по 5 минут каждый раз. После этого был добавлен тетраметилбензидин (ТМБ, Calbiochem), после чего регистрировали поглощение при 620 нм. Реакцию останавливали добавлением 100 мкл 250 нМ HCl и измеряли поглощение при 450 нм при длине волны сравнения 620 нм с использованием прибора Vmax plate reader (Thermo Lab Systems).

Фигура 38 показывает репрезентативные результаты этого эксперимента для клеток рака молочной железы Hs578T (вверху) и клеток рака легких NCI-H292 (внизу). По сравнению с контрольным антителом Gamagard, гуманизированные антитела против AXL 11B7-T5, 11B7-T6, 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 настоящего изобретения были способны блокировать или снижать Gas6-опосредуемую активацию АКТ-киназы в обеих линиях клеток, что видно по сниженным уровням фосфорилирования АКТ (Ser473) в Gas6-стимулированных клетках по сравнению с соответствующими нестимулированными клетками.

Пример 28: Гуманизированные антитела 11B7 против AXL настоящего изобретения индуцируют интернализацию рецептора AXL

AXL идентифицирован как фактор, который может влиять на миграцию и выживание опухолевых клеток через опосредуемый AXL путь передачи сигнала, включающий сигнальный путь АКТ, о котором говорилось выше. Таким образом, если AXL будет эффективно удаляться с поверхности/мембраны клеток за счет интернализации рецептора, клеточный сигнальный путь и, таким образом, сохранение клеток, а также рост опухолей и метастазирование могут быть, в конечном счете, снижены или подавлены.

Для исследования вопроса, способны ли гуманизированные антитела против AXL 11B7-T5 и 11B7-T6, а также 11B7-T6-производные 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 настоящего изобретения индуцировать ускоренный эндоцитоз AXL, сравнивали относительное количество молекул AXL на клеточной поверхности через 2, 4, 6 и 20 часов инкубации клеток с гуманизированными антителами против AXL настоящего изобретения.

Вкратце, в день 1 клетки в количестве  $2 \times 10^5$  высевали в нормальную среду роста в 6-луночные чашки и оставляли расти в течение ночи. На следующий день среду удаляли и клетки промывали бессывороточной средой. После этого клетки либо не обрабатывали, либо инкубировали с 10 мкг/мл контрольного антитела Gamagard (Baxter), а также гуманизированных антител против AXL 11B7-T5, 11B7-T6, 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 в бессывороточной среде, обогащенной 10 мМ HEPES в течение 40 минут при 4°C. После этого клетки выдерживали при 37°C в течение указанных

периодов времени для обеспечения протекания интернализации. После этого клетки снимали с подложки 10 мМ ЭДТА и ресуспендировали в 100 мкл буфера для промывки (PBS, 3% FCS). Для последующей фиксации по каплям добавляли 100 мкл 2% параформальдегида в PBS при интенсивном встряхивании клеток. Через 20 минут инкубации при комнатной температуре клетки промывали и ресуспендировали в 100 мкл буфера для промывки для хранения в холодильнике, пока не были собраны все образцы. Для конечного прокрашивания клеток для определения уровней экспрессии AXL образцы переносили в круглодонные 96-луночные планшеты и инкубировали с 3 мкг/мл mAb 2A1 крысы против AXL в буфере для промывки в течение 1 часа при 4°C. Клетки дважды промывали буфером для промывки, инкубировали с вторичными антителами IgG-PE осла против антител крысы (Dianova), разведенными 1:100, в течение 60 минут при 4°C, снова дважды промывали буфером для промывки и анализировали методом FACS (Beckman Coulter EPICS, EXP032).

Репрезентативные данные на Фигуре 38 показывают, что обработка клеток рака молочной железы Hs578T гуманизированными антителами против AXL 11B7-T5, 11B7-T6, 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 приводит к интернализации рецептора AXL, тогда как контрольное антитело Gammagard не обладает таким действием. Показаны относительные уровни экспрессии AXL в %, определенные как средние уровни интенсивности флуоресценции образцов, обработанных mAb против AXL, по отношению к необработанным образцам, за соответствующие периоды обработки.

Пример 29. Гуманизированные антитела 11B7 против AXL настоящего изобретения ингибируют стимулируемый сфероидом клеточный ангиогенез *in vitro*

AXL представляет собой ключевой регулятор множественного проявления ангиогенеза, включая миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток и формирование сосудов *in vitro* (Holland et al., Cancer Res: 65, 9294-9303, 2005). Таким образом, гуманизированные антитела против AXL 11B7-T5 и 11B7-T6, а также 11B7-T6-производные - 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 настоящего изобретения были протестированы на ингибиторное действие на Gas6-индуцируемое прорастание сосудов в сфероиде HUVEC. Эксперименты проводились по модифицированному методу, изначально опубликованному в литературе (Korff and Augustin: J Cell Sci 112: 3249-58, 1999).

Вкратце, сфероиды были приготовлены, как описано (Korff and Augustin: J Cell Biol 143: 1341-52, 1998), путем пипетирования 500 эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC) в комбинации с VEGF-A [25 нг/мл] в висящей капле на пластиковых чашках для обеспечения агрегации сфероидов в течение ночи. После этого сфероиды HUVEC в количестве 50 штук высевали в 0,9 мл раствора коллагена (2 мг/мл) и переносили пипеткой в индивидуальные лунки 24-луночного планшета для обеспечения полимеризации. Через 30 минут снижающиеся концентрации контрольного антитела Gammagard (Baxter) или гуманизированных антител против AXL 11B7-T5, 11B7-T6, 11B7-T11, 11B7-T23 и 11B7-T25 ( $1 \times 10^{-6}$  М,  $3 \times 10^{-7}$  М,  $1 \times 10^{-7}$  М,  $3 \times 10^{-8}$  М,  $1 \times 10^{-8}$  М,  $3 \times 10^{-9}$  М,  $1 \times 10^{-10}$  М) вместе с GAS6 человека (R&D Systems) наносили пипеткой по 100 мкл из 10-кратного рабочего разведения на вершину полимеризованного геля (конечная концентрация GAS6 человека составляла 1 мкг/мл). Планшеты инкубировали при 37°C в течение 24 часов и фиксировали добавлением 4% Roti-Histofix (Roth, Karlsruhe, Germany). Интенсивность прорастания сфероидов HUVEC количественно определялась с помощью системы анализа изображений, которая определяет общую длину проростков на один сфероид, с использованием инвертированного микроскопа и программы анализа цифрового изображения Analysis 3.2 (Soft imaging system, Munster, Germany). Среднее

значение общей длины проростков в 10 случайным образом выбранных сфероидах было взято в качестве одной экспериментальной точки.

Фигура 39 показывает репрезентативные результаты этого эксперимента.

#### Формула изобретения

1. Моноклональное гуманизированное антитело, которое специфически связывает внеклеточный домен AXL и, по меньшей мере, частично ингибирует активность AXL, которое содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи, выбираемую из группы, включающей последовательности от SEQ ID NO: 67 до SEQ ID NO: 72, или, по меньшей мере, вариабельный домен этих последовательностей, или аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90% идентичности с этими последовательностями;

или аминокислотную последовательность вариабельного домена тяжелой цепи, выбираемую из группы, включающей последовательности от SEQ ID NO: 114 до SEQ ID NO: 120, или аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90% идентичности с этими последовательностями,

и аминокислотную последовательность легкой цепи, выбираемую из группы, включающей последовательности от SEQ ID NO: 55 до SEQ ID NO: 60, или, по меньшей мере, вариабельный домен этих последовательностей, или аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90% идентичности с этими последовательностями;

или аминокислотную последовательность вариабельного домена легкой цепи, выбираемую из группы, включающей последовательности от SEQ ID NO: 83 до SEQ ID NO: 113, или аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90% идентичности с этими последовательностями;

или фрагмент этих последовательностей, распознающий тот же самый эпитоп на внеклеточном домене AXL.

2. Моноклональное гуманизированное антитело по п. 1, которое снижает и/или блокирует опосредуемую AXL передачу сигнала, фосфорилирование AXL, пролиферацию клеток, ангиогенез, миграцию клеток, метастазирование опухолей и/или опосредуемый AXL анти-апоптоз, лиганд-индуцируемое фосфорилирование сигнальных молекул, находящихся ниже в опосредуемом AXL сигнальном каскаде, таких как ERK1/2, АКТ, GSK-3 $\beta$ , TSC2, mTOR и/или S6K1.

3. Моноклональное гуманизированное антитело по любому одному из пп. 1-2, которое является производным химерного анти-AXL антитела 11D5 (SEQ ID NO: 137, 138) и которое содержит, по меньшей мере, одну мутацию в каркасном участке, по меньшей мере, одного вариабельного домена 11D5.

4. Моноклональное гуманизированное антитело по п. 1, выбираемое из группы гуманизированных антител h#11D5, выбираемых из группы, состоящей из h#11D5-T1, h#11D5-T2, h#11D5-T3, h#11D5-T4, h#11D5-T5 или h#11D5-T6.

5. Молекула изолированной нуклеиновой кислоты, кодирующая антитело, которое связывает внеклеточный домен AXL и, по меньшей мере, частично ингибирует активность AXL, выбираемая из группы, состоящей из:

(а) последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей моноклональное антитело, фрагмент антитела или его производное по любому из пп. 1-4,

(b) последовательности нуклеиновой кислоты, как показано в одной из последовательностей SEQ ID NOs., выбираемой из группы, включающей последовательности от SEQ ID NO: 5 до SEQ ID NO: 17, от SEQ ID NO: 31 до SEQ ID

NO: 39, от SEQ ID NO: 49 до SEQ ID NO: 54 и от SEQ ID NO: 61 до SEQ ID NO: 66, и

(с) последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, выбираемый из группы, включающей последовательности от SEQ ID NO: 18 до SEQ ID NO: 30, от SEQ ID NO: 40 до SEQ ID NO: 48, от SEQ ID NO: 55 до SEQ ID NO: 60, от SEQ ID NO: 67 до SEQ ID NO: 72, от SEQ ID NO: 73 до SEQ ID NO: 120 и от SEQ ID NO: 121 до SEQ ID NO: 132.

6. Молекула изолированной нуклеиновой кислоты для гибридизации с молекулой нуклеиновой кислоты по п. 5, выбираемая из группы, состоящей из:

(d) нуклеиновой кислоты, комплементарной любой из последовательностей, определенных в п. 5, или

(е) последовательности нуклеиновой кислоты, способной гибридизоваться с молекулой нуклеиновой кислоты по п. 5 или нуклеиновой кислотой (d) в жестких условиях и кодирующей полипептид, где антитело или его функциональный фрагмент, включающие указанный полипептид, связываются с внеклеточным доменом AXL.

7. Экспрессионный вектор, включающий последовательность нуклеиновой кислоты по п. 5 или 6.

8. Клетка-хозяин, продуцирующая антитело по пп. 1-4 и содержащая вектор по п. 7.

9. Способ производства моноклонального гуманизированного антитела по любому одному из пп. 1-4, включающий стадию культивирования клетки-хозяина по п. 8 и извлечения полипептидов антител из культурального супернатанта.

10. Фармацевтическая композиция, включающая моноклональное гуманизированное антитело по любому одному из пп. 1-4, в количестве 1 мкг - 100 мг на кг массы тела, для диагностики гиперпролиферативного заболевания, связанного с экспрессией, сверхэкспрессией и/или гиперактивностью AXL.

11. Фармацевтическая композиция, включающая моноклональное гуманизированное антитело по любому одному из пп. 1-4, в количестве 1 мкг - 100 мг на кг массы тела, для профилактики или лечения гиперпролиферативного заболевания, связанного с экспрессией, сверхэкспрессией и/или гиперактивностью AXL.

12. Фармацевтическая композиция по п. 10 или 11, где указанное гиперпролиферативное заболевание выбирается из группы, состоящей из рака молочной железы, рака легких и других видов рака, сопровождающихся экспрессией или сверхэкспрессией AXL и образованием метастазов опухоли.

13. Применение моноклонального гуманизированного антитела по любому одному из пп. 1-4 для диагностики, профилактики или лечения гиперпролиферативного заболевания, связанного с экспрессией, сверхэкспрессией и/или гиперактивностью AXL.

14. Применение моноклонального гуманизированного антитела по любому одному из пп. 1-4 для производства фармацевтической композиции для диагностики, профилактики или лечения гиперпролиферативного заболевания, связанного с экспрессией, сверхэкспрессией и/или гиперактивностью AXL.

15. Способ для диагностики состояния здоровья, связанного с экспрессией AXL, включающий контактирование образца с моноклональным гуманизированным антителом по любому одному из пп. 1-4, которое связано с метящей группой, и выявление присутствия AXL, где состояние здоровья представляет собой гиперпролиферативное заболевание, связанное с экспрессией, сверхэкспрессией и/или гиперактивностью AXL.

16. Набор для получения медикамента для лечения заболеваний, связанных с экспрессией, сверхэкспрессией и/или гиперактивностью AXL, включающий моноклональное антитело по любому одному из пп. 1-4, молекулу нуклеиновой кислоты

по п. 5 или 6 или экспрессирующий вектор по п. 7 и дополнительный  
antineoplastic agent.

17. Применение гуманизированного антитела против AXL по любому одному из пп.  
1-4 для производства фармацевтической композиции для лечения рака, устойчивого к  
5 лекарствам.

10

15

20

25

30

35

40

45

## СПИСКИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| <110> | U3 Pharma GmbH  |     |
| <120> | Humanized AXL antibodies  |     |
| <130> | 45430P WO   |     |
| <160> | 169   |     |
| <170> | PatentIn version 3.3  |     |
| <210> | 1   |     |
| <211> | 28  |     |
| <212> | DNA   |     |
| <213> | Artificial  |     |
| <220> |   |     |
| <223> | Primer EFF1   |     |
| <400> | 1   |     |
|       | ccacgcgccc tgtagcggcg cattaagc                                    | 28  |
| <210> | 2   |     |
| <211> | 30  |     |
| <212> | DNA   |     |
| <213> | Artificial  |     |
| <220> |   |     |
| <223> | Primer EFsmaR   |     |
| <400> | 2   |     |
|       | aaaccggga gctttttgca aaagcctagg                                   | 30  |
| <210> | 3   |     |
| <211> | 1704  |     |
| <212> | DNA   |     |
| <213> | Homo sapiens  |     |
| <400> | 3   |     |
|       | ggtaccaccc aagctggcta ggtaagcttg ctacgcccac catggtgctg cagacccagg | 60  |
|       | tgttcatctc cctgctgctg tggatctccg gcgcatatgg cgatatcgtg atgattaaac | 120 |
|       | gtacggtggc cgccccctcc gtgttcatct tccccccctc cgacgagcag ctgaagtccg | 180 |
|       | gcaccgcctc cgtggtgtgc ctgctgaata acttctaccc cagagaggcc aaggtgcagt | 240 |
|       | ggaaggtgga caacgccctg cagtccggga actcccagga gagcgtgacc gagcaggaca | 300 |
|       | gcaaggacag cacctacagc ctgagcagca ccctgaccct gagcaaagcc gactacgaga | 360 |
|       | agcacaaggt gtacgcctgc gaggtgacct accagggcct gagctcccc gtcaccaaga  | 420 |
|       | gcttcaacag gggggagtgt taggggccc tttaaacggg tggcatccct gtgaccctc   | 480 |
|       | cccagtgcct ctctggccc tggaagttgc cactccagtg cccaccagcc ttgtccta    | 540 |
|       | aaaattaagt tgcattctt tgtctgacta ggtgtccttc tataatatta tggggtggag  | 600 |
|       | gggggtggta tggagcaagg ggcaagttgg gaagacaacc ttagggcct gcggggtcta  | 660 |
|       | ttgggaacca agctggagt cagtggcaca atcttggtc actgcaatct ccgcctcctg   | 720 |
|       | ggttcaagcg attctcctgc ctacgcctcc cgagttgttg ggattccagg catgcatgac | 780 |
|       | caggctcacc taatttttgt ttttttggtg gagacggggt ttcaccatat tggccaggct | 840 |

```

ggctctccaac tcctaattctc aggtgatcta cccaccttgg cctcccaaatt tgctgggatt      900
acaggcgtga accactgctc cacgcgccct gtagcggcgc attaagcgcg gcgggtgtgg      960
tggttacgcg cagcgtgacc gctacacttg ccagcgccct agcgcccgtt cttttcgctt     1020
tcttcccttc ctttctcgcc acgttcgccg gctttccccg tcaagctcta aatcgggggc     1080
tcccttttagg gttccgattt agtgctttac ggcacctcga ccccaaaaaa cttgattagg     1140
gtgatgggttc acgtagtggg ccatcgccct gatagacggt ttttcgccct ttgacgttgg     1200
agtccacgtt ctttaatatg ggactcttgt tccaaactgg aacaacactc aaccctatct     1260
cggctctattc ttttgattta taagggtatt tgccgatttc ggcctattgg ttaaaaaatg     1320
agctgattta acaaaaaattt aacgcgaatt aattctgtgg aatgtgtgtc agttagggtg     1380
tggaaggtcc ccaggctccc cagcaggcag aagtatgcaa agcatgcatc tcaattagtc     1440
agcaaccagg tgtggaaagt cccaggctc cccagcaggc agaagtatgc aaagcatgca     1500
tctcaattag tcagcaacca tagtccccgc cctaactccg cccatcccgc ccctaactcc     1560
gcccagttcc gccatttctc cgccccatgg ctgactaatt ttttttattt atgcagaggc     1620
cgaggccgcc tctgcctctg agctattcca gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct     1680
aggcttttgc aaaaagctcc cggg                                     1704

```

```

<210> 4
<211> 1120
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 4
tgctagcgcc accatgaaac acctgtggtt cttcctcctg ctggtggcag ctcccagatg      60
gggtgctgagc cagggtgcaat tgtgcaggcg gtagctcag cctccacca gggcccaagc     120
gtcttcccc tggcacctc ctccaagagc acctctggcg gcacagccgc cctgggctgc     180
ctggtcaagg actacttccc cgaacccgtg accgtgagct ggaactcagg cgccctgacc     240
agcggcgtgc acaccttccc cgctgtcctg cagtcctcag gactctactc cctcagcagc     300
gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc acccagacct acatctgcaa cgtgaatcac     360
aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga gttgagccca aatcttgtga caaaactcac     420
acatgcccac cctgcccagc acctgaactc ctggggggac cctcagtctt cctcttcccc     480
ccaaaacca aggacacct catgatctcc cggaccctg aggtcacatg cgtggtggtg     540
gacgtgagcc acgaagacct tgaggtaag ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggtg     600
cataatgcca agacaaagcc ccgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg ggtggtcagc     660
gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagtg caaggctctc     720
aacaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg ccagccccgg     780
gaaccacagg tgtacacct gccccatcc cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc     840
ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctatccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat     900
ggccagcccc agaacaacta caagaccacc cctcccgtgc tggactccga cggctccttc     960

```

```

ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcagggcaa cgtcttctca 1020
tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac cactacaccc agaagagcct ctccctgtct 1080
cccggcaaat gagatatcgg gcccgtttaa acgggtggca 1120

```

```

<210> 5
<211> 702
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T1L light chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(60)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (61)..(387)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (388)..(702)

```

```

<400> 5
atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcattatggc 60
gacatccaga tgaccagag ccctagctct ctgagcgcct ctgtgggcga ccgggtgacc 120
atcacctgtc gggccagcca ggacatcggc aactacctga gatggtacca gcagaagcct 180
ggaaaggccc ctaagctgct gatcagcggc gccaccaacc tggccgccgg cgtgcctagc 240
cggttctctg gaaccggatc tggcaccgac ttcaccttca ccatcagctc tctgcagcct 300
gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcag agcaaggagt ctcttggac cttcggcgga 360
ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacgggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
cccagagagg ccaagggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactccag 540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

```

```

<210> 6
<211> 702
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T2L light chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(60)
<223> signal sequence

```



<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (61)..(387)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (388)..(702)

<400> 6  
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc 60  
 gacatccaga tgaccagag ccctagctct ctgagcgctt ctgtgggcga ccgggtgacc 120  
 atcacctgtc gggccagcca ggacatcggc aactacctga gatggttcca gcagaagcct 180  
 ggaaaggccc ctaagctgat gatcagcggc gccaccaacc tggccgccgg cgtgcctagc 240  
 cggttctctg gaaccggatc tggcaccgac tacaccttca ccatcagctc tctgcagcct 300  
 gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcag agcaaggagt ctccttggac cttcggcgga 360  
 ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420  
 tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480  
 cccagagagg ccaagggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540  
 gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600  
 ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660  
 ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702

<210> 7  
 <211> 702  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T3L light chain (DNA)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(60)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (61)..(387)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (388)..(702)

<400> 7  
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc 60  
 gacatccaga tgaccagag ccctagctct ctgagcgctt ctgtgggcga ccgggtgacc 120  
 atcacctgtc gggccagcca ggacatcggc aactacctga gatggttcca gcagaagcct 180  
 ggaaaggccc ctaagctgat gatcagcggc gccaccaacc tggccgccgg cgtgcctagc 240  
 cggttctctg gaagccgggtc tggcagcgac tacacctga ccatcagctc tctgcagcct 300  
 gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcag agcaaggagt ctccttggac cttcggcgga 360

```

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

```

```

<210> 8
<211> 702
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T4L light chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(60)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (61)..(387)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (388)..(702)

```

```

<400> 8
atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc 60
gacatccaga tgaccagag ccctagctct ctgagcgcct ctgtgggcga ccgggtgacc 120
atcacctgtc gggccagcca ggacatcggc aactacctga gatggtacca gcagaagcct 180
ggaaaggccc ctaagctgct gatcagcggc gccaccaacc tggccgccgg cgtgcctagc 240
cggttctctg gaagcggatc tggcagcgac ttcaccctga ccatcagctc tctgcagcct 300
gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcag agcaaggagt ctccttggac cttcggccag 360
ggcaccaagc tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

```

```

<210> 9
<211> 702
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T5L light chain (DNA)

```

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(60)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (61)..(387)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (388)..(702)

<400> 9  
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcatatggc 60  
 gacatccaga tgaccagag ccctagctct ctgagcgctt ctgtgggcga ccgggtgacc 120  
 atcacctgtc gggccagcca ggacatcggc aactacctga gatggttcca gcagaagcct 180  
 ggaaaggccc ctaagctgat gatcagcggc gccaccaacc tggccgccgg cgtgcctagc 240  
 cggttctctg gaagcggatc tggcagcgac tacaccctga ccatcagctc tctgcagcct 300  
 gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcag agcaaggagt ctccttggac cttcggccag 360  
 ggcaccaagc tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420  
 tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480  
 cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540  
 gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600  
 ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660  
 ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702

<210> 10  
 <211> 702  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T6L light chain (DNA)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(60)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (61)..(387)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (388)..(702)

<400> 10  
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcatatggc 60  
 gacatccaga tgaccagag ccctagctct ctgagcgctt ctgtgggcga ccgggtgacc 120  
 atcacctgtc gggccagcca ggacatcggc aactacctga gatggttcca gcagaagcct 180

```

ggaaaggccc ctaagctgat gatcagcggc gccaccaacc tggccgccgg cgtgcctagc 240
cggttctctg gaagcggatc tggcagcgac tacaccctga ccatcagctc tctgcagcct 300
gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcag agcaaggagt ctccttggac cttcggccag 360
ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702

```

```

<210> 11
<211> 702
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T7L light chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(60)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (61)..(387)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (388)..(702)

```

```

<400> 11
atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc 60
gacatccaga tgaccagag ccctagctct ctgagcgctt ctgtgggcga ccgggtgacc 120
atcacctgtc gggccagcca ggacatcggc aactacctga gatggtacca gcagaagcct 180
ggaaaggccc ctaagctgat gatcagcggc gccaccaacc tggccgccgg cgtgcctagc 240
cggttctctg gaagcggatc tggcagcgac tacaccctga ccatcagctc tctgcagcct 300
gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcag agcaaggagt ctccttggac cttcggccag 360
ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702

```

```

<210> 12

```

<211> 702  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T8L light chain (DNA)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(60)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (61)..(387)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (388)..(702)

```
<400> 12
atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc    60
gacatccaga tgaccagag ccctagctct ctgagcgctt ctgtgggcga ccgggtgacc    120
atcacctgtc gggccagcca ggacatcggc aactacctga gatggttcca gcagaagcct    180
ggaaaggccc ctaagctgct gatcagcggc gccaccaacc tggccgccgg cgtgcctagc    240
cggttctctg gaagcggatc tggcagcgac tacaccctga ccatcagctc tctgcagcct    300
gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcag agcaaggagt ctcttggac cttcggccag    360
ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc    420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttttac    480
cccagagagg ccaagggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag    540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc    600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc    660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt                          702
```

<210> 13  
 <211> 702  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T9L light chain (DNA)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(60)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (61)..(387)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (388)..(702)

```

<400> 13
atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc    60
gacatccaga tgaccagag ccctagctct ctgagcgctt ctgtgggcga ccgggtgacc    120
atcacctgtc gggccagcca ggacatcggc aactacctga gatggttcca gcagaagcct    180
ggaaaggccc ctaagctgat gatcagcggc gccaccaacc tggccgccgg cgtgcctagc    240
cggttctctg gaagcggatc tggcagcgac ttcacctga ccatcagctc tctgcagcct    300
gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcag agcaaggagt ctcttggac cttcggccag    360
ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc    420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac    480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag    540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc    600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc    660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt                                702

```

```

<210> 14
<211> 702
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T10L light chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(60)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (61)..(387)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (388)..(702)

```

```

<400> 14
atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc    60
gacatccaga tgaccagag ccctagctct ctgagcgctt ctgtgggcga ccgggtgacc    120
atcacctgtc gggccagcca ggacatcggc aactacctga gatggttacca gcagaagcct    180
ggaaaggccc ctaagctgct gatcagcggc gccaccaacc tggccgccgg cgtgcctagc    240
cggttctctg gaagcggatc tggcagcgac tacacctga ccatcagctc tctgcagcct    300
gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcag agcaaggagt ctcttggac cttcggccag    360
ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc    420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac    480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag    540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc    600

```

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660  
 ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggaggt gt 702

<210> 15  
 <211> 702  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T11L light chain (DNA)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(60)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (61)..(387)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (388)..(702)

<400> 15  
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc 60  
 gacatccaga tgaccagag ccctagctct ctgagcgcct ctgtgggcga ccgggtgacc 120  
 atcacctgtc gggccagcca ggacatcggc aactacctga gatggttcca gcagaagcct 180  
 ggaaaggccc ctaagctgct gatcagcggc gccaccaacc tggccgccgg cgtgcctagc 240  
 cggtttctctg gaagcggatc tggcagcgac ttcaccctga ccatcagctc tctgcagcct 300  
 gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcag agcaaggagt ctccttggaac cttcggccag 360  
 ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420  
 tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480  
 cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540  
 gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600  
 ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660  
 ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggaggt gt 702

<210> 16  
 <211> 702  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T12L light chain (DNA)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(60)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region

<222> (61)..(387)

<220>

<221> C\_region

<222> (388)..(702)

<400> 16

```

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcatatggc      60
gacatccaga tgaccagag ccctagctct ctgagcgctt ctgtgggcga ccgggtgacc      120
atcacctgtc gggccagcca ggacatcggc aactacctga gatggtacca gcagaagcct      180
ggaaaggccc ctaagctgat gatcagcggc gccaccaacc tggccgccgg cgtgcctagc      240
cggttctctg gaagcggatc tggcagcgac ttcaccctga ccatcagctc tctgcagcct      300
gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcag agcaaggagt ctccttggac cttcggccag      360
ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc      420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac      480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagtcagg gaactcccag      540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc      600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc      660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt                          702

```

<210> 17

<211> 702

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> h#11B7-T13L light chain (DNA)

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(60)

<223> signal sequence

<220>

<221> V\_region

<222> (61)..(387)

<220>

<221> C\_region

<222> (388)..(702)

<400> 17

```

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcatatggc      60
gacatccaga tgaccagag ccctagctct ctgagcgctt ctgtgggcga ccgggtgacc      120
atcacctgtc gggccagcca ggacatcggc aactacctga gatggtacca gcagaagcct      180
ggaaaggccc ctaagctgct gatcagcggc gccaccaacc tggccgccgg cgtgcctagc      240
cggttctctg gaagcggatc tggcagcgac ttcaccctga ccatcagctc tctgcagcct      300
gaggacttcg ccacctacta ctgtctgcag agcaaggagt ctccttggac cttcggccag      360
ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc      420

```



```

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac      480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag      540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc      600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc      660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt                          702

```

```

<210> 18
<211> 234
<212> PRT
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T1L light chain (AA)

```

```

<220>
<221> SIGNAL
<222> (1)..(20)

```

```

<220>
<221> SITE
<222> (21)..(129)
<223> variable region

```

```

<220>
<221> SITE
<222> (130)..(234)
<223> constant region

```

```

<400> 18

```

```

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1          5          10          15

```

```

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20          25          30

```

```

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp
35          40          45

```

```

Ile Gly Asn Tyr Leu Arg Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50          55          60

```

```

Lys Leu Leu Ile Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser
65          70          75          80

```

```

Arg Phe Ser Gly Thr Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser
85          90          95

```

```

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys
100         105         110

```

```

Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115         120         125

```

```

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

```

130                      135                      140  
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145                      150                      155                      160  
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
                     165                      170                      175  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
                     180                      185                      190  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
                     195                      200                      205  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
                     210                      215                      220  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225                      230  
  
 <210> 19  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> h#11B7-T2L light chain (AA)  
  
 <220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(20)  
  
 <220>  
 <221> SITE  
 <222> (21)..(129)  
 <223> variable region  
  
 <220>  
 <221> SITE  
 <222> (130)..(234)  
 <223> constant region  
  
 <400> 19  
 Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
 1                      5                      10                      15  
  
 Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
                     20                      25                      30  
  
 Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
                     35                      40                      45  
  
 Ile Gly Asn Tyr Leu Arg Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
                     50                      55                      60  
  
 Lys Leu Met Ile Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser

|                 |                         |                     |                 |     |  |    |
|-----------------|-------------------------|---------------------|-----------------|-----|--|----|
| 65              |                         | 70                  |                 | 75  |  | 80 |
| Arg Phe Ser Gly | Thr Gly Ser Gly Thr     | Asp Tyr Thr Phe Thr | Ile Ser         |     |  |    |
|                 | 85                      | 90                  | 95              |     |  |    |
| Ser Leu Gln Pro | Glu Asp Phe Ala Thr     | Tyr Tyr Cys Leu     | Gln Ser Lys     |     |  |    |
|                 | 100                     | 105                 | 110             |     |  |    |
| Glu Ser Pro Trp | Thr Phe Gly Gly Gly Thr | Lys Val Glu         | Ile Lys Arg     |     |  |    |
|                 | 115                     | 120                 | 125             |     |  |    |
| Thr Val Ala Ala | Pro Ser Val Phe Ile Phe | Pro Pro Ser Asp     | Glu Gln         |     |  |    |
|                 | 130                     | 135                 | 140             |     |  |    |
| Leu Lys Ser Gly | Thr Ala Ser Val Val     | Cys Leu Leu Asn Asn | Phe Tyr         |     |  |    |
|                 | 145                     | 150                 | 155             | 160 |  |    |
| Pro Arg Glu Ala | Lys Val Gln Trp Lys     | Val Asp Asn Ala     | Leu Gln Ser     |     |  |    |
|                 | 165                     | 170                 | 175             |     |  |    |
| Gly Asn Ser Gln | Glu Ser Val Thr Glu     | Gln Asp Ser Lys     | Asp Ser Thr     |     |  |    |
|                 | 180                     | 185                 | 190             |     |  |    |
| Tyr Ser Leu Ser | Ser Thr Leu Thr Leu Ser | Lys Ala Asp Tyr     | Glu Lys         |     |  |    |
|                 | 195                     | 200                 | 205             |     |  |    |
| His Lys Val Tyr | Ala Cys Glu Val Thr     | His Gln Gly         | Leu Ser Ser Pro |     |  |    |
|                 | 210                     | 215                 | 220             |     |  |    |
| Val Thr Lys Ser | Phe Asn Arg Gly         | Glu Cys             |                 |     |  |    |
|                 | 225                     | 230                 |                 |     |  |    |

<210> 20  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> h#11B7-T3L light chain (AA)  
  
 <220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(20)  
  
 <220>  
 <221> SITE  
 <222> (21)..(129)  
 <223> variable region  
  
 <220>  
 <221> SITE  
 <222> (130)..(234)  
 <223> constant region  
  
 <400> 20

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

|                         |                     |                     |                 |
|-------------------------|---------------------|---------------------|-----------------|
| 1                       | 5                   | 10                  | 15              |
| Gly Ala Tyr             | Gly Asp Ile Gln Met | Thr Gln Ser Pro Ser | Ser Leu Ser     |
|                         | 20                  | 25                  | 30              |
| Ala Ser Val             | Gly Asp Arg Val     | Thr Ile Thr Cys Arg | Ala Ser Gln Asp |
|                         | 35                  | 40                  | 45              |
| Ile Gly Asn Tyr Leu Arg | Trp Phe Gln Gln Lys | Pro Gly Lys Ala Pro |                 |
|                         | 50                  | 55                  | 60              |
| Lys Leu Met Ile Ser     | Gly Ala Thr Asn Leu | Ala Ala Gly Val Pro | Ser             |
|                         | 65                  | 70                  | 75              |
| Arg Phe Ser Gly         | Ser Arg Ser Gly Ser | Asp Tyr Thr Leu Thr | Ile Ser         |
|                         | 85                  | 90                  | 95              |
| Ser Leu Gln             | Pro Glu Asp Phe Ala | Thr Tyr Tyr Cys Leu | Gln Ser Lys     |
|                         | 100                 | 105                 | 110             |
| Glu Ser Pro             | Trp Thr Phe Gly     | Gly Gly Thr Lys Val | Glu Ile Lys Arg |
|                         | 115                 | 120                 | 125             |
| Thr Val Ala Ala Pro Ser | Val Phe Ile Phe Pro | Pro Ser Asp Glu Gln |                 |
|                         | 130                 | 135                 | 140             |
| Leu Lys Ser Gly Thr     | Ala Ser Val Val Cys | Leu Leu Asn Asn Phe | Tyr             |
|                         | 145                 | 150                 | 155             |
| Pro Arg Glu Ala         | Lys Val Gln Trp Lys | Val Asp Asn Ala Leu | Gln Ser         |
|                         | 165                 | 170                 | 175             |
| Gly Asn Ser             | Gln Glu Ser Val Thr | Glu Gln Asp Ser Lys | Asp Ser Thr     |
|                         | 180                 | 185                 | 190             |
| Tyr Ser Leu             | Ser Ser Thr Leu Thr | Leu Ser Lys Ala     | Asp Tyr Glu Lys |
|                         | 195                 | 200                 | 205             |
| His Lys Val Tyr Ala Cys | Glu Val Thr His Gln | Gly Leu Ser Ser Pro |                 |
|                         | 210                 | 215                 | 220             |
| Val Thr Lys Ser Phe     | Asn Arg Gly Glu Cys |                     |                 |
|                         | 225                 | 230                 |                 |

<210> 21  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T4L light chain (AA)

<220>

<221> SIGNAL  
<222> (1)..(20)

<220>  
<221> SITE  
<222> (21)..(129)  
<223> variable region

<220>  
<221> SITE  
<222> (130)..(234)  
<223> constant region

<400> 21

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Arg Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser  
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys  
100 105 110

Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
225 230

<210> 22  
<211> 234  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11B7-T5L light chain (AA)

<220>  
<221> SIGNAL  
<222> (1)..(20)

<220>  
<221> SITE  
<222> (21)..(129)  
<223> variable region

<220>  
<221> SITE  
<222> (130)..(234)  
<223> constant region

<400> 22

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Arg Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
50 55 60

Lys Leu Met Ile Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser  
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser  
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys  
100 105 110

Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
225 230

<210> 23  
<211> 234  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11B7-T6L light chain (AA)

<220>  
<221> SIGNAL  
<222> (1)..(20)

<220>  
<221> SITE  
<222> (21)..(129)  
<223> variable region

<220>  
<221> SITE  
<222> (130)..(234)  
<223> constant region

<400> 23

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Arg Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
50 55 60

Lys Leu Met Ile Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser  
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser  
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys  
100 105 110

Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
225 230

<210> 24  
<211> 234  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11B7-T7L light chain (AA)

<220>  
<221> SIGNAL  
<222> (1)..(20)

<220>  
<221> SITE  
<222> (21)..(129)  
<223> variable region

<220>  
<221> SITE  
<222> (130)..(234)  
<223> constant region

<400> 24

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
20 25 30



Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Arg Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
50 55 60

Lys Leu Met Ile Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser  
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser  
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys  
100 105 110

Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
225 230

<210> 25  
<211> 234  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11B7-T8L light chain (AA)

<220>  
<221> SIGNAL  
<222> (1)..(20)

<220>  
<221> SITE

&lt;222&gt; (21)..(129)

&lt;223&gt; variable region

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; SITE

&lt;222&gt; (130)..(234)

&lt;223&gt; constant region

&lt;400&gt; 25

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
 1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
 20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
 35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Arg Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
 50 55 60

Lys Leu Leu Ile Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser  
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser  
 85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys  
 100 105 110

Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

<210> 26  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T9L light chain (AA)

<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(20)

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (21)..(129)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (130)..(234)  
 <223> constant region

<400> 26

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
 1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
 20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
 35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Arg Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
 50 55 60

Lys Leu Met Ile Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser  
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys  
 100 105 110

Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
180 185 190  
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
195 200 205  
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
210 215 220  
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
225 230

<210> 27  
<211> 234  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11B7-T10L light chain (AA)

<220>  
<221> SIGNAL  
<222> (1)..(20)

<220>  
<221> SITE  
<222> (21)..(129)  
<223> variable region

<220>  
<221> SITE  
<222> (130)..(234)  
<223> constant region

<400> 27

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Arg Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser  
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser  
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys  
100 105 110

Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
225 230

<210> 28  
<211> 234  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11B7-T11L light chain (AA)

<220>  
<221> SIGNAL  
<222> (1)..(20)

<220>  
<221> SITE  
<222> (21)..(129)  
<223> variable region

<220>  
<221> SITE  
<222> (130)..(234)  
<223> constant region

<400> 28

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Arg Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
 50 55 60  
 Lys Leu Leu Ile Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser  
 65 70 75 80  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 85 90 95  
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys  
 100 105 110  
 Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125  
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140  
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160  
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 195 200 205  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 210 215 220  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

<210> 29  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T12L light chain (AA)

<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(20)

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (21)..(129)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE

&lt;222&gt; (130)..(234)

&lt;223&gt; constant region

&lt;400&gt; 29

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
 1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
 20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
 35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Arg Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
 50 55 60

Lys Leu Met Ile Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser  
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys  
 100 105 110

Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 234

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T13L light chain (AA)

<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(20)

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (21)..(129)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (130)..(234)  
 <223> constant region

<400> 30

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
 1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
 20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
 35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Arg Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
 50 55 60

Lys Leu Leu Ile Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser  
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys  
 100 105 110

Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190



Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

<210> 31  
 <211> 1386  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T1H heavy chain (DNA)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(57)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (58)..(396)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (397)..(1386)

<400> 31  
 atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60  
 atccagctgc aggagagcgg ccctggcctg gtgaagccta gccagaccct gagcctgacc 120  
 tgtgccgtgt ctggatacag catcaccagc aactactggg gctggatccg gcagcctcct 180  
 ggcaagggac tggagtggat cggctacatc acctacagcg gctctaccag ctacaaccct 240  
 agcctgaagt ctagagtgc catcagcgtg gacacctcta agaaccagtt cagcctgaag 300  
 ctgtcttctg tgaccgccgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccatcac cactttctac 360  
 tactggggac aggaaccct ggtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc 420  
 ttccccctgg caccctctc caagagcacc tctggcggca cagccgccct gggctgcctg 480  
 gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc 540  
 ggcgtgcaca cttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600  
 gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660  
 cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720  
 tgcccaccct gccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttcct cttcccccca 780  
 aaaccaagg acaccctcat gatctcccg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840  
 gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900  
 aatgccaaaga caagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc 960  
 ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020

aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa 1080  
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1140  
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc 1200  
cagccccgaga acaactacaa gaccaccctt cccgtgctgg actccgacgg ctctttcttc 1260  
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc 1320  
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc 1380  
ggcaaa 1386

<210> 32  
<211> 1386  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11B7-T2H heavy chain (DNA)

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(57)  
<223> signal sequence

<220>  
<221> V\_region  
<222> (58)..(396)

<220>  
<221> C\_region  
<222> (397)..(1386)

<400> 32  
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60  
atccagctgc aggagagcgg ccctggcctg gtgaagccta gccagaccct gagcctgacc 120  
tgtgccgtgt ctggatacag catcaccagc aactactggg gctggatccg gcagcctcct 180  
ggcaagggac tggagtggat gggctacatc acctacagcg gctctaccag ctacaaccct 240  
agcctgaagt ctagaatcag catcagcgtg gacacctcta agaaccagtt cagcctgaag 300  
ctgtcttctg tgaccgccgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccatcac caccttctac 360  
tactggggac aggggaaccct ggtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc 420  
ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctggcggca cagccgccct gggctgcctg 480  
gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc 540  
ggcgtgcaca ccttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactcct cagcagcgtg 600  
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660  
cccagcaaca ccaagggtgga caagagagtt gagcccaaatt cttgtgacaa aactcacaca 720  
tgcccaccct gccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttcct cttcccccca 780  
aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840  
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900  
aatgccaaga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc 960

```

ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc 1200
cagcccgaga acaactacaa gaccaccctt cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc 1380
ggcaaa 1386

```

```

<210> 33
<211> 1386
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T3H heavy chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(57)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (58)..(396)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (397)..(1386)

```

```

<400> 33
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60
gtgcagctgc aggagagcgg ccctggcctg gtgaagccta gccagaccct gagcctgacc 120
tgtgccgtgt ctggatacag catcaccagc aactactggg gctggatccg gaagcctcct 180
ggcgacggac tggagtggat gggctacatc acctacagcg gctctaccag ctacaaccct 240
agcctgaagt ctagaatcag catcaccggg gacacctcta agaaccagtt cagcctgaag 300
ctgtcttctg tgaccgccgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccatcac caccttctac 360
tactggggac aggggaaccct ggtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc 420
ttccccctgg caccctctct caagagcacc tctggcggca cagccgccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ctttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660
cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaa at cttgtgacaa aactcacaca 720
tgccaccct gccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttctt cttcccccca 780
aaaccaaggg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840

```

```

gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat    900
aatgccaaaga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc    960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac   1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa   1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatccccg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg   1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc   1200
cagcccgaga acaactacaa gaccaccctt cccgtgctgg actccgacgg ctctttcttc   1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc   1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc   1380
ggcaaa                                         1386

```

```

<210> 34
<211> 1386
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T4H heavy chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(57)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (58)..(396)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (397)..(1386)

```

```

<400> 34
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag    60
gtgcagctgc agcagtgggg cgccggcctg ctgaagccta gcgagaccct gagcctgacc   120
tgtaccgtgt ctgatacag catcaccagc aactactggg gctggatccg gcagcctcct   180
ggcaagggac tggagtggat cggctacatc acctacagcg gctctaccag ctacaacctt   240
agcctgaagt ctagagtga catcagccgg gacacctcta agaaccagtt cagcctgaag   300
ctgtcttctg tgaccgccgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccatcac caccttctac   360
tactggggac aggaaccac cgtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc   420
ttccccctgg caccctctc caagagcacc tctggcggca cagccgccct gggctgcctg   480
gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc   540
ggcgtgcaca cttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactcct cagcagcgtg   600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctata tctgcaacgt gaatcacaag   660
cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca   720
tgcccaccct gcccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttctt cttcccccca   780

```

```

aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac      840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat      900
aatgccaaaga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc      960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac     1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa     1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg     1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc     1200
cagcccgaga acaactacaa gaccaccctt cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttctc     1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc     1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc     1380
ggcaaa                                           1386

```

```

<210> 35
<211> 1386
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T5H heavy chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(57)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (58)..(396)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (397)..(1386)

```

```

<400> 35
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag      60
gtgcagctgc agcagtgggg cgccggcctg ctgaagccta gcgagaccct gagcctgacc     120
tgtaccgtgt ctggatacag catcaccagc aactactggg gctggatccg gcagcctcct     180
ggcaagggac tggagtggat gggctacatc acctacagcg gctctaccag ctacaaccct     240
agcctgaagt ctagaatcag catcagccgg gacacctcta agaaccagtt cagcctgaag     300
ctgtcttctg tgaccgccgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccatcac caccttctac     360
tactggggac aggggaaccac cgtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc     420
ttccccctgg caccctctct caagagcacc tctggcggca cagccgccct gggctgcctg     480
gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc     540
ggcgtgcaca ctttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactccct cagcagcgctg     600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag     660

```

```

cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca    720
tgcccaccct gcccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttcct cttcccccca    780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac    840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat    900
aatgccaaaga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc    960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac   1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa   1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg   1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc   1200
cagcccgaga acaactacaa gaccaccctt cccgtgctgg actccgacgg ctctttcttc   1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc   1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc   1380
ggcaaaa                                           1386

```

```

<210> 36
<211> 1386
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T6H heavy chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(57)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (58)..(396)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (397)..(1386)

```

```

<400> 36
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag    60
gtgcagctgc aggagagcgg ccctggcctg gtgaagccta gcgagaccct gagcctgacc   120
tgtaccgtgt ctggatacag catcaccagc aactactggg gctggatccg gcagcctcct   180
ggcaagggac tggagtggat gggctacatc acctacagcg gctctaccag ctacaaccct   240
agcctgaagt ctagaatcag catcagccgg gacacctcta agaaccagtt cagcctgaag   300
ctgtcttctg tgaccgccgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccatcac caccttctac   360
tactggggac agggaaccct ggtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc   420
ttccccctgg caccctctc caagagcacc tctggcgcca cagccgccct ggggtgcctg   480
gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc   540
ggcgtgcaca ccttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg   600

```

```

gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag    660
cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca    720
tgccaccctt gccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttcct cttcccccca    780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac    840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat    900
aatgccaaga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc    960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac   1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa   1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg   1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc   1200
cagcccgaga acaactacaa gaccaccctt cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct   1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc   1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc   1380
ggcaaa                                           1386

```

```

<210> 37
<211> 1386
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T7H heavy chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(57)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (58)..(396)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (397)..(1386)

```

```

<400> 37
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag    60
gtgcagctgc aggagagcgg ccctggcctg gtgaagccta gcgagaccct gagcctgacc   120
tgtaccgtgt ctggatacag catcaccagc aactactggg gctggatccg gcagcctcct   180
ggcaagggac tggagtggat cggctacatc acctacagcg gctctaccag ctacaaccct   240
agcctgaagt ctagagttag catcagccgg gacacctcta agaaccagtt cagcctgaag   300
ctgtcttctg tgaccgccgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccatcac caccttctac   360
tactggggac aggggaaccct ggtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc   420
ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctggcggca cagccgcctt gggctgcctg   480

```

```

gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc      540
ggcgtgcaca ccttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg      600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag      660
cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca      720
tgccccaccct gcccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttctt cttcccccca      780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccg gacccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac      840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat      900
aatgccaaaga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc      960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac     1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa     1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg     1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc     1200
cagccccgaga acaactacaa gaccaccctt cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct     1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc     1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc     1380
ggcaaa                                           1386

```

```

<210> 38
<211> 1386
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T8H heavy chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(57)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (58)..(396)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (397)..(1386)

```

```

<400> 38
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag      60
gtgcagctgc aggagagcgg ccctggcctg gtgaagccta gcgagaccct gagcctgacc     120
tgtaccgtgt ctggatacag catcaccagc aactactggg gctggatccg gcagcctcct     180
ggcaagggac tggagtggat gggctacatc acctacagcg gctctaccag ctacaaccct     240
agcctgaagt ctagaatcac catcagccgg gacacctcta agaaccagtt cagcctgaag     300
ctgtcttctg tgaccgccgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccatcac caccttctac     360
tactggggac agggaaaccct ggtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc     420

```



```

ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctggcggca cagccgccct gggctgcctg      480
gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc      540
ggcgtgcaca ccttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg      600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag      660
cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca      720
tgcccaccct gcccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttcct cttcccccca      780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac      840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat      900
aatgccaa ga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc      960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac     1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa     1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg     1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc     1200
cagcccgaga acaactacaa gaccaccct cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttc     1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc     1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc     1380
ggcaaaa                                           1386

```

```

<210> 39
<211> 1386
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T9H heavy chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(57)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (58)..(396)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (397)..(1386)

```

```

<400> 39
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag      60
gtgcagctgc aggagagcgg ccctggcctg gtgaagccta gcgagaccct gagcctgacc     120
tgtaccgtgt ctggatacag catcaccagc aactactggg gctggatccg gcagcctcct     180
ggcaagggac tggagtggat cggctacatc acctacagcg gctctaccag ctacaaccct     240
agcctgaagt ctagagtgc catcagccgg gacacctcta agaaccagtt cagcctgaag     300

```

```

ctgtcttctg tgaccgccgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccatcac caccttctac 360
tactggggac agggaaacct ggtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc 420
ttccccctgg caccctcttc caagagcacc tctggcgga cagccgccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660
cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgccaccct gccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttcct cttcccccca 780
aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaa ga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc 1200
cagcccgaga acaactacaa gaccaccct cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc 1380
ggcaaa 1386

```

```

<210> 40
<211> 462
<212> PRT
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11B7-T1H heavy chain (AA)

```

```

<220>
<221> SIGNAL
<222> (1)..(19)

```

```

<220>
<221> SITE
<222> (20)..(132)
<223> variable region

```

```

<220>
<221> SITE
<222> (133)..(462)
<223> constant region

```

```

<400> 40

```

```

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1          5          10          15

```

```

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

```

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |     |     |     |
| Pro | Ser | Gln | Thr | Leu | Ser | Leu | Thr | Cys | Ala | Val | Ser | Gly | Tyr | Ser | Ile |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Ser | Asn | Tyr | Trp | Gly | Trp | Ile | Arg | Gln | Pro | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Glu | Trp | Ile | Gly | Tyr | Ile | Thr | Tyr | Ser | Gly | Ser | Thr | Ser | Tyr | Asn | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ser | Leu | Lys | Ser | Arg | Val | Thr | Ile | Ser | Val | Asp | Thr | Ser | Lys | Asn | Gln |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Phe | Ser | Leu | Lys | Leu | Ser | Ser | Val | Thr | Ala | Ala | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Tyr | Cys | Ala | Ile | Thr | Thr | Phe | Tyr | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Pro | Ser | Ser | Lys | Ser | Thr | Ser | Gly | Gly | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Ser | Leu |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Ile | Cys | Asn | Val | Asn | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Lys | Val | Asp | Lys | Arg | Val | Glu | Pro | Lys | Ser | Cys | Asp | Lys | Thr | His | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Glu | Leu | Leu | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460  
 <210> 41  
 <211> 462  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> h#11B7-T2H heavy chain (AA)  
 <220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(19)  
 <220>  
 <221> SITE  
 <222> (20)..(132)  
 <223> variable region  
 <220>  
 <221> SITE  
 <222> (133)..(462)  
 <223> constant region  
 <400> 41  
 Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
 1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Ile Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys  
 20 25 30  
 Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
 35 40 45  
 Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Met Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
 85 90 95  
 Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110  
 Tyr Cys Ala Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 115 120 125  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220  
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

<210> 42  
 <211> 462  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T3H heavy chain (AA)

<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(19)

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (20)..(132)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (133)..(462)  
 <223> constant region

<400> 42

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys  
20 25 30

Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Asp Gly Leu  
50 55 60

Glu Trp Met Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro  
65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
100 105 110

Tyr Cys Ala Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
195 200 205

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
210 215 220

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
225 230 235 240

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
245 250 255

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
260 265 270

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
275 280 285

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
290 295 300

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
305 310 315 320

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
325 330 335

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
340 345 350

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
355 360 365

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
370 375 380

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
385 390 395 400

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
405 410 415

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
420 425 430

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
435 440 445

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
450 455 460

<210> 43  
<211> 462  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11B7-T4H heavy chain (AA)

<220>  
<221> SIGNAL  
<222> (1)..(19)  
<220>  
<221> SITE  
<222> (20)..(132)  
<223> variable region

<220>  
<221> SITE  
<222> (133)..(462)



&lt;223&gt; constant region

&lt;400&gt; 43

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
 1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys  
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
 35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Ala Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val  
 115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 245 250 255

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|--|
| 260 |     |     |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     |     |     | 270 |     |  |  |  |  |  |
| Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val |  |  |  |  |  |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |  |  |  |  |
| Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr |  |  |  |  |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |  |  |  |  |
| Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val | Val | Ser | Val |  |  |  |  |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |  |  |  |  |
| Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys |  |  |  |  |  |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |  |  |  |  |
| Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Ala | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser |  |  |  |  |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |  |  |  |  |
| Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro |  |  |  |  |  |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |  |  |  |  |
| Ser | Arg | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val |  |  |  |  |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |  |  |  |  |
| Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly |  |  |  |  |  |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |  |  |  |  |
| Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp |  |  |  |  |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |  |  |  |  |
| Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp |  |  |  |  |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |  |  |  |  |
| Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His |  |  |  |  |  |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |  |  |  |  |
| Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys |     |     |  |  |  |  |  |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |  |  |  |  |

```
<210> 44
<211> 462
<212> PRT
<213> Artificial
```

<220>  
<223> h#11B7-T5H heavy chain (AA)

```
<220>
<221> SIGNAL
<222> (1)..(19)
```

```
<220>
<221> SITE
<222> (20)..(132)
<223> variable region
```

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (133)..(462)  
 <223> constant region

<400> 44

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
 1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys  
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
 35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60

Glu Trp Met Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Ala Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val  
 115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 245 250 255

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
                     260                    265                    270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
                     275                    280                    285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
                     290                    295                    300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
                     305                    310                    315                    320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
                     325                    330                    335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
                     340                    345  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
                     355                    360                    365  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
                     370                    375                    380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
                     385                    390                    395                    400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
                     405                    410                    415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
                     420                    425                    430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
                     435                    440                    445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
                     450                    455                    460

<210> 45  
 <211> 462  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T6H heavy chain (AA)

<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(19)

<220>  
 <221> SITE

<222> (20)..(132)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (133)..(462)  
 <223> constant region

<400> 45

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
 1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys  
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
 35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60

Glu Trp Met Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Ala Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460  
 <210> 46  
 <211> 462  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> h#11B7-T7H heavy chain (AA)  
 <220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(19)

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (20)..(132)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (133)..(462)  
 <223> constant region

<400> 46

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
 1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys  
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
 35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Ala Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460  
 <210> 47  
 <211> 462  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> h#11B7-T8H heavy chain (AA)



<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(19)

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (20)..(132)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (133)..(462)  
 <223> constant region

<400> 47

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
 1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys  
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
 35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60

Glu Trp Met Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Ala Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

| 210   | 215        | 220 |     |     |
|---|------------|-----|-----|-----|
| Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr | 225        | 230 | 235 | 240 |
| Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe | 245        | 250 | 255 |     |
| Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro | 260        | 265 | 270 |     |
| Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val | 275        | 280 | 285 |     |
| Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr | 290        | 295 | 300 |     |
| Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val | 305        | 310 | 315 | 320 |
| Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys | 325        | 330 | 335 |     |
| Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser | 340        | 345 | 350 |     |
| Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro | 355        | 360 | 365 |     |
| Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val | 370        | 375 | 380 |     |
| Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly | 385        | 390 | 395 | 400 |
| Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp | 405        | 410 | 415 |     |
| Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp | 420        | 425 | 430 |     |
| Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His | 435        | 440 | 445 |     |
| Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys         | 450        | 455 | 460 |     |
| <210>   | 48         |     |     |     |
| <211>   | 462        |     |     |     |
| <212>   | PRT        |     |     |     |
| <213>   | Artificial |     |     |     |
| <220>   |            |     |     |     |

<223> h#11B7-T9H heavy chain (AA)

<220>

<221> SIGNAL

<222> (1)..(19)

<220>

<221> SITE

<222> (20)..(132)

<223> variable region

<220>

<221> SITE

<222> (133)..(462)

<223> constant region

<400> 48

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys  
20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro  
65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
100 105 110

Tyr Cys Ala Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
195 200 205

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220  
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460  
 <210> 49  
 <211> 702  
 <212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> h#11D5-T1L light chain (DNA)

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(60)

<223> signal sequence

<220>

<221> V\_region

<222> (61)..(387)

<220>

<221> C\_region

<222> (388)..(702)

<400> 49

```

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc      60
gacgtgcaaa tgaccagag ccttccagc ctgtccgccg gcgtgggcga cagagtgacc      120
atcacctgtc gggcctcca agacatcggc aactacctga gctggtacca gcaaaagcct      180
ggcaaggccc ctaagcttct gatctacggc gccatcaagc tggccgtggg agtgccttcc      240
cggtttagcg gctccggcag cggcaccgac ttaccctta ccatctccag cctgcagcct      300
gaggactttg ccacctacta ctgtctgcaa tacatccagt ttctcttac ctttggccaa      360
ggaaccaagc tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc      420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac      480
cccagagagg ccaagggtga gtggaagggt gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag      540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc      600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc      660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt                        702

```

<210> 50

<211> 702

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> h#11D5-T2L light chain (DNA)

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(60)

<223> signal sequence

<220>

<221> V\_region

<222> (61)..(387)

<220>

<221> C\_region

<222> (388)..(702)

<400> 50

```

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc      60

```

```

gacatccaaa tgaccagag cccttcagc ctgtccgcc gcgtgggcga cagagtgacc 120
atcacctgtc gggcctccca agacatcggc aactacctga gctggtttca gcaaaagcct 180
ggcaaggccc ctagacttat gatctacggc gccatcaagc ttgccgtggg agtgccttcc 240
cggtttagcg gctccggcag cggcaccgac tacaccctga ccatctccag ccttcagcct 300
gaggactttg ccacctacta ctgtctgcaa tacatccagt ttctctgac ctttgccaa 360
ggaaccaagc ttgagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702

```

```

<210> 51
<211> 702
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11D5-T3L light chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(60)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (61)..(387)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (388)..(702)

```

```

<400> 51
atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc 60
gacatccaaa tgaccagag ccccttcagc ctgtccgcc gcgtgggcga cagagtgacc 120
atcacctgtc gggcctccca agacatcggc aactacctga gctggtttca acagaagggtg 180
ggcaagtccc ctagacggat gatctacggc gccatcaagc ttgccgtggg agtgcctagc 240
agattttccg gcagccggtc cggcagcgac tacaccctga ccatctccag cctgcaacct 300
gaggactttg ccatctacta ctgtcttcag tacatccaat ttctctgac ctttggtctc 360
ggaaccaagc tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

```

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggaggt gt

702

<210> 52  
 <211> 702  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T4L light chain (DNA)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(60)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (61)..(387)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (388)..(702)

<400> 52  
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc 60  
 gacatccaaa tgaccagag cccttccagc ctgtccgccg gcgtgggcca cagagtgacc 120  
 atcacctgtc gggcctccca agacatcggc aactacctga gctggtacca gcaaaagcct 180  
 ggcaaggccc ctaagagact tatctacggc gccatcaagc tggccgtggg agtgccttcc 240  
 cggtttagcg gctccggcag cggcaccgag tttaccctga ccactctcag ctttcagcct 300  
 gaggactttg ccacctacta ctgtctgcaa tacatccagt ttctctgac ctttggcgga 360  
 ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacgggt gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420  
 tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480  
 cccagagagg ccaagggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540  
 gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600  
 ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660  
 ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggaggt gt 702

<210> 53  
 <211> 702  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T5L light chain (DNA)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(60)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (61)..(387)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (388)..(702)

<400> 53  
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc 60  
 gacatccaaa tgaccagag cccttcagc ctgtccgcc gctggggcga cagagtgacc 120  
 atcacctgtc gggcctccca agacatcggc aactacctga gctggtttca gcaaaagcct 180  
 ggcaaggccc ctagacggat gatctacggc gccatcaagc ttgccgtggg agtgccttcc 240  
 agatttagcg gctccggcag cggcaccgac tacaccctga ccatctccag cctgcagcct 300  
 gaggactttg ccacctacta ctgtcttcaa tacatccagt ttctctgac ctttggcgga 360  
 ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420  
 tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480  
 cccagagagg ccaagggtga gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactccag 540  
 gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600  
 ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660  
 ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702

<210> 54  
 <211> 702  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T6L light chain (DNA)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(60)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (61)..(387)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (388)..(702)

<400> 54  
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc 60  
 gacatccaaa tgaccagag cccttcagc ctgtccgcc gctggggcga cagagtgacc 120  
 atcacctgtc gggcctccca agacatcggc aactacctga gctggtttca gcaaaagcct 180  
 ggcaaggccc ctagacggat gatctacggc gccatcaagc ttgccgtggg agtgccttcc 240  
 agatttagcg gctccggcag cggcaccgac tacaccctga ccatctccag cctgcagcct 300  
 gaggactttg ccacctacta ctgtcttcaa tacatccagt ttctctgac ctttggccaa 360  
 ggaaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420  
 tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480



```

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag      540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc      600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc      660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggaggt gt                          702

```

```

<210> 55
<211> 234
<212> PRT
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11D5-T1L light chain (AA)

```

```

<220>
<221> SIGNAL
<222> (1)..(20)

```

```

<220>
<221> SITE
<222> (21)..(129)
<223> variable region

```

```

<220>
<221> SITE
<222> (130)..(234)
<223> constant region

```

```

<400> 55

```

```

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1          5          10          15

```

```

Gly Ala Tyr Gly Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20          25          30

```

```

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp
35          40          45

```

```

Ile Gly Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50          55          60

```

```

Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser
65          70          75          80

```

```

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85          90          95

```

```

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile
100          105          110

```

```

Gln Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
115          120          125

```

```

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130          135          140

```

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
225 230

<210> 56  
<211> 234  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T2L light chain (AA)

<220>  
<221> SIGNAL  
<222> (1)..(20)

<220>  
<221> SITE  
<222> (21)..(129)  
<223> variable region

<220>  
<221> SITE  
<222> (130)..(234)  
<223> constant region

<400> 56

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
50 55 60

Arg Leu Met Ile Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser  
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser  
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile  
100 105 110

Gln Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
225 230

<210> 57  
<211> 234  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T3L light chain (AA)

<220>  
<221> SIGNAL  
<222> (1)..(20)

<220>  
<221> SITE  
<222> (21)..(129)  
<223> variable region

<220>  
<221> SITE  
<222> (130)..(234)  
<223> constant region

<400> 57

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
                   20                                  25                                  30  
 Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
                   35                                  40                                  45  
 Ile Gly Asn Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Val Gly Lys Ser Pro  
           50                                  55                                  60  
 Arg Arg Met Ile Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser  
   65                                  70                                  75                                  80  
 Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser  
                   85                                  90                                  95  
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile  
                   100                                  105                                  110  
 Gln Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
                   115                                  120                                  125  
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
           130                                  135                                  140  
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
   145                                  150                                  155                                  160  
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
                   165                                  170                                  175  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
                   180                                  185                                  190  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
           195                                  200                                  205  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
           210                                  215                                  220  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
   225                                  230  
  
 <210> 58  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> h#11D5-T4L light chain(AA)  
  
 <220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(20)

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (21)..(129)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (130)..(234)  
 <223> constant region

<400> 58

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
 1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
 20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
 35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
 50 55 60

Lys Arg Leu Ile Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser  
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile  
 100 105 110

Gln Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

<210> 59  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T5L light chain (AA)

<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(20)

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (21)..(129)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (130)..(234)  
 <223> constant region

<400> 59

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
 1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
 20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
 35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
 50 55 60

Arg Arg Met Ile Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser  
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser  
 85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile  
 100 105 110

Gln Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
165 170 175  
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
180 185 190  
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
195 200 205  
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
210 215 220  
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
225 230

<210> 60  
<211> 234  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T6L light chain (AA)

<220>  
<221> SIGNAL  
<222> (1)..(20)

<220>  
<221> SITE  
<222> (21)..(129)  
<223> variable region

<220>  
<221> SITE  
<222> (130)..(234)  
<223> constant region

<400> 60

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile  
 100 105 110

Gln Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

<210> 61  
 <211> 1386  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T1H heavy chain (DNA)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(57)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (58)..(396)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (297)..(1386)

<400> 61  
 atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccaa 60  
 gtgcaactgc aagagagcgg ccctggcctg gtgaagcctt cccaaccct tagcctgacc 120  
 tgtaccgtga gcggctactc catcaccagc aactactggg gctggatcag acaacctcct 180  
 ggcatggggc tggagtggat cggacacatc accaatagcg gcaacaccac ctacaatccc 240  
 tcccttaaga gccgggtgac catctccgtg gacaccagcg agaaccaatt ttccctgaag 300



```

ctgtcttccg tgaccctgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccaaggg cgcctttgac 360
tactggggcc aaggaaccct tgtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc 420
ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctggcgcca cagccgccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ctttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactccct cagcagcgctg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660
cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgccaccct gccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttcct cttcccccca 780
aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc 1200
cagcccgaga acaactacaa gaccaccct cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc 1380
ggcaaa 1386

```

```

<210> 62
<211> 1386
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11D5-T2H heavy chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(57)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (58)..(396)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (297)..(1386)

```

```

<400> 62
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60
gtgcaactgc aagagagcgg ccctggcctg gtgaagcctt ccaaaccct tagcctgacc 120
tgtaccgtgt ccggctacag catcacctcc aactactggg gctggatcag acaacctcct 180
ggcatggggc tggagtggat cggacacatc accaatagcg gcaacaccac ctacaatccc 240

```

```

tcccttaaga gccg gatctc catcagcgtg gacacctccg agaaccaatt tagcctgaag      300
ctgtccagcg tgaccctgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccaaggg cgcctttgac      360
tactggggcc aaggaaccct tgtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc      420
ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctggcgcca cagccgccct gggctgcctg      480
gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc      540
ggcgtgcaca ctttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg      600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaa      660
cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaatt cttgtgacaa aactcacaca      720
tgccccacct gccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttctt cttcccccca      780
aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac      840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat      900
aatgccaaaga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc      960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac     1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa     1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg     1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc     1200
cagcccgaga acaactacaa gaccaccctt cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct     1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc     1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc     1380
ggcaaa                                         1386

```

```

<210> 63
<211> 1386
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11D5-T3H heavy chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(57)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (58)..(396)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (297)..(1386)

```

```

<400> 63
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag      60
gtgcaactgc aagagagcgg ccctggcctg gtgaagcctt cccaaaccct tagcctgacc     120

```

```

tgtaccgtgt ccggctacag catcacctcc aactactggg gctggatcag aaagtttcct 180
ggcaacaaga tggagtggat cggacacatc accaatagcg gcaacaccac ctacaatccc 240
tccctgaaga gccggatctc catcagccgg gacacctcca agaaccaatt tagccttaag 300
ctgtccagcg tgaccctgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccaaggg cgcctttgac 360
tactggggcc aaggaaccct ggtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc 420
ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctggcgcca cagccgccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ctttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactcct cagcagcgctg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660
cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgccccaccct gcccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttcct cttcccccca 780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc 960
ctcacctgcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc 1200
cagcccgaga acaactacaa gaccaccct cccgtgctgg actccgacgg ctctttcttc 1260
ctctacagca agctaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc 1380
ggcaaa 1386

```

```

<210> 64
<211> 1386
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11D5-T4H heavy chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(57)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (58)..(396)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (297)..(1386)

```

```

<400> 64
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccaa 60

```

```

gtgcaactgc aacaatgggg cgccggcctg cttaagccta gcgagaccct gtccttgacc 120
tgtaccgtga gcggctactc catcaccagc aactactggg gctggatcag acaacctcct 180
ggcaagggcc ttgagtggat cggacacatc accaattccg gcaacaccac ctacaatccc 240
agcctgaagt cccgggtgac catcagcaga gacacctcca agaaccaatt tagcctgaag 300
ctttccagcg tgaccgccgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccaaggg cgcctttgac 360
tactggggcc aaggaaccct ggtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc 420
ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctggcgga cagccgccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ctttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660
cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgccccacct gccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttctt cttcccccca 780
aaaccaaggg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgctg ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaaga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc 1200
cagcccgaga acaactacaa gaccaccctt cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc 1380
ggcaaaa

```

```

<210> 65
<211> 1386
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11D5-T5H heavy chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(57)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> V_region
<222> (58)..(396)

```

```

<220>
<221> C_region
<222> (297)..(1386)

```

```

<400> 65
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag      60
gtgcaactgc aacaatgggg cgccggcctg cttaagccta gcgagaccct gtccctgacc      120
tgtaccgtga gcggctactc catcaccagc aactactggg gctggatcag acaacctcct      180
ggcaagggcc ttgagtggat cggacacatc accaattccg gcaacaccac ctacaatccc      240
agcctgaagt cccggatcag catctccaga gacaccagca agaaccaatt ttccctgaag      300
ctttccagcg tgaccgccgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccaaggg cgcctttgac      360
tactggggcc aaggaaccct ggtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc      420
ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctggcggca cagccgccct gggctgcctg      480
gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc      540
ggcgtgcaca ctttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactccct cagcagcgctg      600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag      660
cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca      720
tgccccaccct gcccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttcct cttcccccca      780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac      840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat      900
aatgccaaaga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc      960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac     1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa     1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg     1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc     1200
cagcccgaga acaactacaa gaccaccctc cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttctc     1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc     1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc     1380
ggcaaa                                           1386

```

```

<210> 66
<211> 1386
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> h#11D5-T6H heavy chain (DNA)

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(57)
<223> signal sequence

```

```

<220>
<221> v_region
<222> (58)..(396)

```

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (297)..(1386)

<400> 66  
 atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60  
 gtgcaactgc aagagagcgg ccctggcctg gtgaagcctt ccgagaccct tagcctgacc 120  
 tgtaccgtgt ccggctacag catcacctcc aactactggg gctggatcag acaacctctt 180  
 ggcaagggcc tggagtggat cggacacatc accaatagcg gcaacaccac ctacaatccc 240  
 tcccttaaga gccggatctc catcagcaga gacacctcca agaaccaatt tagcctgaag 300  
 ctgtccagcg tgaccgccgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccaaggc cgcctttgac 360  
 tactggggcc aaggaaccct tgtgaccgtg agctcagcct ccaccaaggc cccaagcgctc 420  
 ttccccctgg caccctctc caagagcacc tctggcggca cagccgccct gggctgcctg 480  
 gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc 540  
 ggcgtgcaca ctttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactcctt cagcagcgctg 600  
 gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660  
 cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaatt cttgtgacaa aactcacaca 720  
 tgcccaccct gcccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttctt cttcccccca 780  
 aaaccaagg acaccctcat gatctcccg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840  
 gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900  
 aatgccaaaga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgctc 960  
 ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020  
 aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa 1080  
 ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1140  
 acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc 1200  
 cagcccgaga acaactacaa gaccaccctt cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttctc 1260  
 ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc 1320  
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccagga agagcctctc cctgtctccc 1380  
 ggcaaa 1386

<210> 67  
 <211> 462  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T1H heavy chain (AA)

<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(19)

<220>  
 <221> SITE

<222> (20)..(132)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (133)..(462)  
 <223> constant region

<400> 67

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
 1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys  
 20 25 30

Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
 35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Met Gly Leu  
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Glu Asn Gln  
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Pro Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Ala Lys Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460  
 <210> 68  
 <211> 462  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> h#11D5-T2H heavy chain (AA)  
 <220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(19)



<220>  
 <221> SITE  
 <222> (20)..(132)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (133)..(462)  
 <223> constant region

<400> 68

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
 1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys  
 20 25 30

Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
 35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Met Gly Leu  
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Ser Val Asp Thr Ser Glu Asn Gln  
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Pro Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Ala Lys Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460  
 <210> 69  
 <211> 462  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> h#11D5-T3H heavy chain (AA)

<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(19)

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (20)..(132)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (133)..(462)  
 <223> constant region

<400> 69

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
 1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys  
 20 25 30

Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
 35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met  
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Pro Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Ala Lys Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

210 215 220  
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

<210> 70  
 <211> 462  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>

<223> h#11D5-T4H heavy chain (AA)

<220>

<221> SIGNAL

<222> (1)..(19)

<220>

<221> SITE

<222> (20)..(132)

<223> variable region

<220>

<221> SITE

<222> (133)..(462)

<223> constant region

<400> 70

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys  
20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
50 55 60

Glu Trp Ile Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro  
65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
100 105 110

Tyr Cys Ala Lys Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
195 200 205

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220  
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 245 250  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460  
 <210> 71  
 <211> 462  
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> h#11D5-T5H heavy chain (AA)

<220>

<221> SIGNAL

<222> (1)..(19)

<220>

<221> SITE

<222> (20)..(132)

<223> variable region

<220>

<221> SITE

<222> (133)..(462)

<223> constant region

<400> 71

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys  
20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
50 55 60

Glu Trp Ile Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro  
65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
100 105 110

Tyr Cys Ala Lys Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220  
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460



<210> 72  
 <211> 462  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T6H heavy chain (AA)

<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(19)

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (20)..(132)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (133)..(462)  
 <223> constant region

<400> 72

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
 1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys  
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
 35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Ala Lys Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220  
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450

455

460

<210> 73  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T14L light chain variable region (AA)  
 <400> 73

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

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

Leu Arg Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile  
 35 40 45

Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys Glu Ser Pro Trp  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105

<210> 74  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T15L light chain variable region (AA)  
 <400> 74

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

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

Leu Arg Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys Glu Ser Pro Trp  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 75  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11B7-T16L light chain variable region (AA)  
<400> 75

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

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

Leu Arg Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile  
35 40 45

Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys Glu Ser Pro Trp  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 76  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11B7-T17L light chain variable region (AA)  
<400> 76

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

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

Leu Arg Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys Glu Ser Pro Trp  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 77  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11B7-T18L light chain variable region (AA)  
<400> 77

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

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

Leu Arg Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys Glu Ser Pro Trp  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 78  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11B7-T19L light chain variable region (AA)  
<400> 78

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

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

<210> 79  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T20L light chain variable region (AA)  
 <400> 79

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

<210> 80  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T10H heavy chain variable region (AA)

&lt;400&gt; 80

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn  
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95

Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
 100 105 110

Ser

&lt;210&gt; 81

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; h#11B7-T11H heavy chain variable region (AA)

&lt;400&gt; 81

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn  
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95

Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
100 105 110

Ser

<210> 82  
<211> 113  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11B7-T12H heavy chain variable region (AA)

<400> 82

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu  
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn  
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
50 55 60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
100 105 110

Ser

<210> 83  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T7L light chain variable region (AA)

<400> 83

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

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

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



35

40

45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105

<210> 84  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T8L light chain variable region (AA)

<400> 84

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105

<210> 85  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T9L light chain variable region (AA)

<400> 85

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

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

<210> 86  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T10L light chain variable region (AA)  
<400> 86

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

<210> 87  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; h#11D5-T11L light chain variable region (AA)

&lt;400&gt; 87

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

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

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105

&lt;210&gt; 88

&lt;211&gt; 109

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; h#11D5-T12L light chain variable region (AA)

&lt;400&gt; 88

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

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

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105

<210> 89  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T13L light chain variable region (AA)

<400> 89

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Arg Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105

<210> 90  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T14L light chain variable region (AA)

<400> 90

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Met Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 91  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T15L light chain variable region (AA)

<400> 91

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 92  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T16L light chain variable reigon (AA)

<400> 92

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 93  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T17L light chain variable region (AA)  
<400> 93

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

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

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Arg Met Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 94  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T18L light chain variable region (AA)  
<400> 94

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

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

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Arg Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

|       |            |
|-------|------------|
| <210> | 95         |
| <211> | 109        |
| <212> | PRT        |
| <213> | Artificial |

```
<220>
<223> h#11D5-T19L light chain variable region (AA)
<400> 95
```

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

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

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Arg Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

|       |            |
|-------|------------|
| <210> | 96         |
| <211> | 109        |
| <212> | PRT        |
| <213> | Artificial |

```
<220>
<223> h#11D5-T20L light chain variable region (AA)
```

&lt;400&gt; 96

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

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

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Met Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105

&lt;210&gt; 97

&lt;211&gt; 109

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; h#11D5-T21L light chain variable region (AA)

&lt;400&gt; 97

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

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

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Met Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105

&lt;210&gt; 98



<211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T22L light chain variable region (AA)

<400> 98

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

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

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105

<210> 99  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T23L light chain variable region (AA)

<400> 99

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Arg Met Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 100  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T24L light chain variable region (AA)  
<400> 100

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Arg Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 101  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T25L light chain variable region (AA)  
<400> 101

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Arg Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 102  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T26L light chain variable region (AA)

<400> 102

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Met Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 103  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T27L light chain variable region (AA)

<400> 103

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Met Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 104  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T28L light chain variable region(AA)  
<400> 104

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 105  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T29L light chain variable region(AA)  
<400> 105

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

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

<210> 106  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T30L light chain variable region (AA)  
 <400> 106

|                 |   |                         |
|-----------------|---|-------------------------|
| Asp Ile Gln Met | Thr Gln Ser Pro Ser Ser                 | Leu Ser Ala Ser Val Gly |
| 1               | 5                                       | 10                      |
| Asp Arg Val     | Thr Ile Thr Cys Arg Ala                 | Ser Gln Asp Ile Gly     |
|                 | 20                                      | 25                      |
| Leu Ser Trp     | Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala         | Pro Arg Arg Met Ile     |
|                 | 35                                      | 40                      |
| Tyr Gly Ala     | Ile Lys Leu Ala Val Gly Val             | Pro Ser Arg Phe Ser Gly |
|                 | 50                                      | 55                      |
| Ser Gly Ser Gly | Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile             | Ser Ser Leu Gln Pro     |
|                 | 65                                      | 70                      |
| Glu Asp Phe Ala | Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe | Pro Leu                 |
|                 | 85                                      | 90                      |
| Thr Phe Gly     | Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr |                         |
|                 | 100                                     | 105                     |

<210> 107  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; h#11D5-T31L light chain variable region(AA)

&lt;400&gt; 107

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

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

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Arg Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105

&lt;210&gt; 108

&lt;211&gt; 109

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; h#11D5-T32L light chain variable region(AA)

&lt;400&gt; 108

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

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

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Met Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100

105

<210> 109  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T33L light chain variable region (AA)  
 <400> 109

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Arg Met Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 100 105

<210> 110  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T34L light chain variable region (AA)  
 <400> 110

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Arg Met Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 111  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T35L light chain variable region (AA)

<400> 111

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Arg Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 112  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T36L light chain variable region (AA)

<400> 112

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Met Ile  
35 40 45



Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 113  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T37L light chain variable region (AA)  
<400> 113

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

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

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Arg Met Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 114  
<211> 113  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T7H heavy chain variable region (AA)  
<400> 114

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn  
                   20                  25                  30  
 Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
                   35                  40                  45  
 Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
                   50                  55                  60  
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
                   65                  70                  75                  80  
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
                   85                  90                  95  
 Lys Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
                   100                  105                  110

Ser

<210> 115  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T8H heavy chain variable region (AA)

<400> 115

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1                  5                  10                  15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn  
                   20                  25                  30  
 Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
                   35                  40                  45  
 Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
                   50                  55                  60  
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
                   65                  70                  75                  80  
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
                   85                  90                  95  
 Lys Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
                   100                  105                  110

Ser

<210> 116  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T9H heavy chain variable region (AA)

<400> 116

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn  
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95

Lys Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
 100 105 110

Ser

<210> 117  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T10H heavy chain variable region (AA)

<400> 117

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn  
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

Lys Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
100 105 110

Ser

<210> 118  
<211> 113  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T11H heavy chain variable region(AA)

<400> 118

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn  
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

Lys Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
100 105 110

Ser

<210> 119  
<211> 113  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> h#11D5-T12H heavy chain variable region (AA)

<400> 119

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

1                      5                      10                      15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn  
                     20                      25                      30  
 Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
                     35                      40                      45  
 Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
                     50                      55                      60  
 Ser Arg Val Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
                     65                      70                      75                      80  
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
                     85                      90                      95  
 Lys Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
                     100                      105                      110

Ser

<210> 120  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11D5-T13H heavy chain variable region (AA)

<400> 120

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1                      5                      10                      15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn  
                     20                      25                      30  
 Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
                     35                      40                      45  
 Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
                     50                      55                      60  
 Ser Arg Ile Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
                     65                      70                      75                      80  
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
                     85                      90                      95  
 Lys Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
                     100                      105                      110

Ser

<210> 121  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> 11B7 Light chain CDRL4  
 <400> 121

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Tyr Leu Arg  
 1 5 10

<210> 122  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> 11B7 Light chain CDRL5  
 <400> 122

Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala  
 1 5

<210> 123  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> 11B7 Light chain CDRL6  
 <400> 123

Leu Gln Ser Lys Glu Ser Pro Trp Thr  
 1 5

<210> 124  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> 11B7 Heavy chain CDRH1  
 <400> 124

Ser Asn Tyr Trp Gly  
 1 5

<210> 125  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> 11B7 Heavy chain CDRH2  
 <400> 125

Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser  
 1 5 10 15

<210> 126  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> 11B7 Heavy chain CDRH3

<400> 126

Thr Thr Phe Tyr Tyr  
 1 5

<210> 127  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> 11D5 Light chain CDRL4

<400> 127

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Tyr Leu Ser  
 1 5 10

<210> 128  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> 11D5 Light chain CDRL5

<400> 128

Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val  
 1 5

<210> 129  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> 11D5 Light chain CDRL6

<400> 129

Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 130  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> 11D5 Light chain CDRH1

<400> 130

Ser Asn Tyr Trp Gly  
1 5

<210> 131

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> 11D5 Light chain CDRH2

<400> 131

His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser  
1 5 10 15

<210> 132

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> 11D5 Light chain CDRH3

<400> 132

Gly Ala Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 133

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Leader Sequence (nucleotide sequence)

<400> 133

atgggtgaca atgacatcca ctttgccttt ctctccacag gtgtgcattc c

51

<210> 134

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Leader Sequence (amino acid sequence)

<400> 134

Met Gly Asp Asn Asp Ile His Phe Ala Phe Leu Ser Thr Gly Val His  
1 5 10 15

Ser

<210> 135

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial



&lt;220&gt;

&lt;223&gt; #11B7-chimeric light chain

&lt;400&gt; 135

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

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

Leu Arg Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Leu Met Ile  
35 40 45

Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser  
65 70 75 80

Glu Asp Met Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys Glu Ser Pro Trp  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

&lt;210&gt; 136

&lt;211&gt; 443

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; #11B7-chimeric heavy chain

&lt;400&gt; 136

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

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn  
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asp Lys Met Glu Trp Met  
 35 40 45

Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60

Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu  
 65 70 75 80

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

Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser  
 100 105 110

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser  
 115 120 125

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp  
 130 135 140

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr  
 145 150 155 160

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr  
 165 170 175

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln  
 180 185 190

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp  
 195 200 205

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro  
 210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
 225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
 245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn  
 260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
 275 280 285  
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
 290 295 300  
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
 305 310 315 320  
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
 325 330 335  
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp  
 340 345 350  
 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
 355 360 365  
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
 370 375 380  
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
 385 390 395 400  
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly  
 405 410 415  
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
 420 425 430  
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440  
 <210> 137  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> #11D5-chimeric light chain  
 <400> 137  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser Thr Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Val Gly Lys Ser Pro Arg Arg Met Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Met Ala Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110  
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125  
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175  
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210  
 <210> 138  
 <211> 443  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> #11D5-chimeric heavy chain  
 <400> 138  
 Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn  
 20 25 30  
 Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60  
 Ser Arg Ile Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe Phe Leu

|                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 65                 |                    |                    |                    |                    | 70                 |                    |                    |                    |                    |                    | 75                 |                    |                    |                    | 80                 |
| Gln                | Leu                | Asn                | Ser                | Val <sub>85</sub>  | Thr                | Thr                | Glu                | Asp                | Thr <sub>90</sub>  | Ala                | Thr                | Tyr                | Tyr                | Cys <sub>95</sub>  | Ala                |
| Lys                | Gly                | Ala                | Phe <sub>100</sub> | Asp                | Tyr                | Trp                | Gly                | Gln <sub>105</sub> | Gly                | Val                | Met                | Val                | Thr <sub>110</sub> | Val                | Ser                |
| Ser                | Ala                | Ser <sub>115</sub> | Thr                | Lys                | Gly                | Pro                | Ser <sub>120</sub> | Val                | Phe                | Pro                | Leu                | Ala <sub>125</sub> | Pro                | Ser                | Ser                |
| Lys                | Ser <sub>130</sub> | Thr                | Ser                | Gly                | Gly                | Thr <sub>135</sub> | Ala                | Ala                | Leu                | Gly                | Cys <sub>140</sub> | Leu                | Val                | Lys                | Asp                |
| Tyr <sub>145</sub> | Phe                | Pro                | Glu                | Pro                | Val <sub>150</sub> | Thr                | Val                | Ser                | Trp                | Asn <sub>155</sub> | Ser                | Gly                | Ala                | Leu                | Thr <sub>160</sub> |
| Ser                | Gly                | Val                | His                | Thr <sub>165</sub> | Phe                | Pro                | Ala                | Val                | Leu <sub>170</sub> | Gln                | Ser                | Ser                | Gly                | Leu <sub>175</sub> | Tyr                |
| Ser                | Leu                | Ser                | Ser <sub>180</sub> | Val                | Val                | Thr                | Val                | Pro <sub>185</sub> | Ser                | Ser                | Ser                | Leu                | Gly <sub>190</sub> | Thr                | Gln                |
| Thr                | Tyr                | Ile <sub>195</sub> | Cys                | Asn                | Val                | Asn                | His <sub>200</sub> | Lys                | Pro                | Ser                | Asn                | Thr <sub>205</sub> | Lys                | Val                | Asp                |
| Lys                | Lys <sub>210</sub> | Val                | Glu                | Pro                | Lys                | Ser <sub>215</sub> | Cys                | Asp                | Lys                | Thr                | His <sub>220</sub> | Thr                | Cys                | Pro                | Pro                |
| Cys <sub>225</sub> | Pro                | Ala                | Pro                | Glu                | Leu <sub>230</sub> | Leu                | Gly                | Gly                | Pro                | Ser <sub>235</sub> | Val                | Phe                | Leu                | Phe                | Pro <sub>240</sub> |
| Pro                | Lys                | Pro                | Lys                | Asp <sub>245</sub> | Thr                | Leu                | Met                | Ile                | Ser <sub>250</sub> | Arg                | Thr                | Pro                | Glu                | Val <sub>255</sub> | Thr                |
| Cys                | Val                | Val                | Val <sub>260</sub> | Asp                | Val                | Ser                | His                | Glu <sub>265</sub> | Asp                | Pro                | Glu                | Val                | Lys <sub>270</sub> | Phe                | Asn                |
| Trp                | Tyr                | Val <sub>275</sub> | Asp                | Gly                | Val                | Glu                | Val <sub>280</sub> | His                | Asn                | Ala                | Lys                | Thr <sub>285</sub> | Lys                | Pro                | Arg                |
| Glu                | Glu <sub>290</sub> | Gln                | Tyr                | Asn                | Ser                | Thr <sub>295</sub> | Tyr                | Arg                | Val                | Val                | Ser <sub>300</sub> | Val                | Leu                | Thr                | Val                |
| Leu                | His                | Gln                | Asp                | Trp                | Leu <sub>310</sub> | Asn                | Gly                | Lys                | Glu                | Tyr <sub>315</sub> | Lys                | Cys                | Lys                | Val                | Ser <sub>320</sub> |
| Asn                | Lys                | Ala                | Leu                | Pro <sub>325</sub> | Ala                | Pro                | Ile                | Glu                | Lys <sub>330</sub> | Thr                | Ile                | Ser                | Lys                | Ala <sub>335</sub> | Lys                |
| Gly                | Gln                | Pro                | Arg <sub>340</sub> | Glu                | Pro                | Gln                | Val                | Tyr <sub>345</sub> | Thr                | Leu                | Pro                | Pro                | Ser <sub>350</sub> | Arg                | Asp                |

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly  
405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440

<210> 139  
<211> 887  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 139

Met Gly Arg Val Pro Leu Ala Trp Cys Leu Ala Leu Cys Gly Trp Ala  
1 5 10 15

Cys Met Ala Pro Arg Gly Thr Gln Ala Glu Glu Ser Pro Phe Val Gly  
20 25 30

Asn Pro Gly Asn Ile Thr Gly Ala Arg Gly Leu Thr Gly Thr Leu Arg  
35 40 45

Cys Gln Leu Gln Val Gln Gly Glu Pro Pro Glu Val His Trp Leu Arg  
50 55 60

Asp Gly Gln Ile Leu Glu Leu Ala Asp Ser Thr Gln Thr Gln Val Pro  
65 70 75 80

Leu Gly Glu Asp Glu Gln Asp Asp Trp Ile Val Val Ser Gln Leu Arg  
85 90 95

Ile Thr Ser Leu Gln Leu Ser Asp Thr Gly Gln Tyr Gln Cys Leu Val  
100 105 110

Phe Leu Gly His Gln Thr Phe Val Ser Gln Pro Gly Tyr Val Gly Leu  
115 120 125

Glu Gly Leu Pro Tyr Phe Leu Glu Glu Pro Glu Asp Arg Thr Val Ala  
130 135 140

Ala Asn Thr Pro Phe Asn Leu Ser Cys Gln Ala Gln Gly Pro Pro Glu  
 145 150 155 160  
 Pro Val Asp Leu Leu Trp Leu Gln Asp Ala Val Pro Leu Ala Thr Ala  
 165 170 175  
 Pro Gly His Gly Pro Gln Arg Ser Leu His Val Pro Gly Leu Asn Lys  
 180 185 190  
 Thr Ser Ser Phe Ser Cys Glu Ala His Asn Ala Lys Gly Val Thr Thr  
 195 200 205  
 Ser Arg Thr Ala Thr Ile Thr Val Leu Pro Gln Gln Pro Arg Asn Leu  
 210 215 220  
 His Leu Val Ser Arg Gln Pro Thr Glu Leu Glu Val Ala Trp Thr Pro  
 225 230 235 240  
 Gly Leu Ser Gly Ile Tyr Pro Leu Thr His Cys Thr Leu Gln Ala Val  
 245 250 255  
 Leu Ser Asp Asp Gly Met Gly Ile Gln Ala Gly Glu Pro Asp Pro Pro  
 260 265 270  
 Glu Glu Pro Leu Thr Ser Gln Ala Ser Val Pro Pro His Gln Leu Arg  
 275 280 285  
 Leu Gly Ser Leu His Pro His Thr Pro Tyr His Ile Arg Val Ala Cys  
 290 295 300  
 Thr Ser Ser Gln Gly Pro Ser Ser Trp Thr His Trp Leu Pro Val Glu  
 305 310 315 320  
 Thr Pro Glu Gly Val Pro Leu Gly Pro Pro Glu Asn Ile Ser Ala Thr  
 325 330 335  
 Arg Asn Gly Ser Gln Ala Phe Val His Trp Gln Glu Pro Arg Ala Pro  
 340 345 350  
 Leu Gln Gly Thr Leu Leu Gly Tyr Arg Leu Ala Tyr Gln Gly Gln Asp  
 355 360 365  
 Thr Pro Glu Val Leu Met Asp Ile Gly Leu Arg Gln Glu Val Thr Leu  
 370 375 380  
 Glu Leu Gln Gly Asp Gly Ser Val Ser Asn Leu Thr Val Cys Val Ala  
 385 390 395 400  
 Ala Tyr Thr Ala Ala Gly Asp Gly Pro Trp Ser Leu Pro Val Pro Leu  
 405 410 415  
 Glu Ala Trp Arg Pro Gly Glu Ala Gln Pro Val His Gln Leu Val Lys

|            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 420        |            |            |            | 425        |            |            |            | 430        |            |            |            |            |            |            |            |
| Glu        | Pro        | Ser<br>435 | Thr        | Pro        | Ala        | Phe        | Ser<br>440 | Trp        | Pro        | Trp        | Trp        | Tyr<br>445 | Val        | Leu        | Leu        |
| Gly        | Ala<br>450 | Val        | Val        | Ala        | Ala        | Ala<br>455 | Cys        | Val        | Leu        | Ile        | Leu<br>460 | Ala        | Leu        | Phe        | Leu        |
| Val<br>465 | His        | Arg        | Arg        | Lys        | Lys<br>470 | Glu        | Thr        | Arg        | Tyr        | Gly<br>475 | Glu        | Val        | Phe        | Glu        | Pro<br>480 |
| Thr        | Val        | Glu        | Arg        | Gly<br>485 | Glu        | Leu        | Val        | Val        | Arg<br>490 | Tyr        | Arg        | Val        | Arg        | Lys<br>495 | Ser        |
| Tyr        | Ser        | Arg        | Arg<br>500 | Thr        | Thr        | Glu        | Ala        | Thr<br>505 | Leu        | Asn        | Ser        | Leu        | Gly<br>510 | Ile        | Ser        |
| Glu        | Glu        | Leu<br>515 | Lys        | Glu        | Lys        | Leu        | Arg<br>520 | Asp        | Val        | Met        | Val        | Asp<br>525 | Arg        | His        | Lys        |
| Val        | Ala<br>530 | Leu        | Gly        | Lys        | Thr        | Leu<br>535 | Gly        | Glu        | Gly        | Glu        | Phe<br>540 | Gly        | Ala        | Val        | Met        |
| Glu<br>545 | Gly        | Gln        | Leu        | Asn        | Gln<br>550 | Asp        | Asp        | Ser        | Ile        | Leu<br>555 | Lys        | Val        | Ala        | Val        | Lys<br>560 |
| Thr        | Met        | Lys        | Ile        | Ala<br>565 | Ile        | Cys        | Thr        | Arg        | Ser<br>570 | Glu        | Leu        | Glu        | Asp        | Phe<br>575 | Leu        |
| Ser        | Glu        | Ala        | Val<br>580 | Cys        | Met        | Lys        | Glu        | Phe<br>585 | Asp        | His        | Pro        | Asn        | Val<br>590 | Met        | Arg        |
| Leu        | Ile        | Gly<br>595 | Val        | Cys        | Phe        | Gln        | Gly<br>600 | Ser        | Glu        | Arg        | Glu        | Ser<br>605 | Phe        | Pro        | Ala        |
| Pro        | Val<br>610 | Val        | Ile        | Leu        | Pro        | Phe<br>615 | Met        | Lys        | His        | Gly        | Asp<br>620 | Leu        | His        | Ser        | Phe        |
| Leu<br>625 | Leu        | Tyr        | Ser        | Arg        | Leu<br>630 | Gly        | Asp        | Gln        | Pro        | Val<br>635 | Tyr        | Leu        | Pro        | Thr        | Gln<br>640 |
| Met        | Leu        | Val        | Lys        | Phe<br>645 | Met        | Ala        | Asp        | Ile        | Ala<br>650 | Ser        | Gly        | Met        | Glu        | Tyr<br>655 | Leu        |
| Ser        | Thr        | Lys        | Arg<br>660 | Phe        | Ile        | His        | Arg        | Asp<br>665 | Leu        | Ala        | Ala        | Arg        | Asn<br>670 | Cys        | Met        |
| Leu        | Asn        | Glu<br>675 | Asn        | Met        | Ser        | Val        | Cys<br>680 | Val        | Ala        | Asp        | Phe        | Gly<br>685 | Leu        | Ser        | Lys        |
| Lys        | Ile<br>690 | Tyr        | Asn        | Gly        | Asp        | Tyr<br>695 | Tyr        | Arg        | Gln        | Gly        | Arg<br>700 | Ile        | Ala        | Lys        | Met        |



Pro Val Lys Trp Ile Ala Ile Glu Ser Leu Ala Asp Arg Val Tyr Thr  
705 710 715 720

Ser Lys Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Thr Met Trp Glu Ile Ala  
725 730 735

Thr Arg Gly Gln Thr Pro Tyr Pro Gly Val Glu Asn Ser Glu Ile Tyr  
740 745 750

Asp Tyr Leu Arg Gln Gly Asn Arg Leu Lys Gln Pro Ala Asp Cys Leu  
755 760 765

Asp Gly Leu Tyr Ala Leu Met Ser Arg Cys Trp Glu Leu Asn Pro Gln  
770 775 780

Asp Arg Pro Ser Phe Thr Glu Leu Arg Glu Asp Leu Glu Asn Thr Leu  
785 790 795 800

Lys Ala Leu Pro Pro Ala Gln Glu Pro Asp Glu Ile Leu Tyr Val Asn  
805 810 815

Met Asp Glu Gly Gly Gly Tyr Pro Glu Pro Pro Gly Ala Ala Gly Gly  
820 825 830

Ala Asp Pro Pro Thr Gln Pro Asp Pro Lys Asp Ser Cys Ser Cys Leu  
835 840 845

Thr Ala Ala Glu Val His Pro Ala Gly Arg Tyr Val Leu Cys Pro Ser  
850 855 860

Thr Thr Pro Ser Pro Ala Gln Pro Ala Asp Arg Gly Ser Pro Ala Ala  
865 870 875 880

Pro Gly Gln Glu Asp Gly Ala  
885

<210> 140

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> 11B7 light chain variable region

<400> 140

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

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

Leu Arg Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Leu Met Ile

35

40

45

Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser  
65 70 75 80

Glu Asp Met Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys Glu Ser Pro Trp  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg  
100 105

<210> 141  
<211> 113  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> 11B7 heavy chain variable region

<400> 141

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

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn  
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asp Lys Met Glu Trp Met  
35 40 45

Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
50 55 60

Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu  
65 70 75 80

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

Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser  
100 105 110

Ser

<210> 142  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> 11D5 light chain variable region

&lt;400&gt; 142

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

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

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Val Gly Lys Ser Pro Arg Arg Met Ile  
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ile Lys Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser  
 65 70 75 80

Glu Asp Met Ala Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ile Gln Phe Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg  
 100 105

&lt;210&gt; 143

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 11D5 heavy chain variable region

&lt;400&gt; 143

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

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn  
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly His Ile Thr Asn Ser Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60

Ser Arg Ile Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe Phe Leu  
 65 70 75 80

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

Lys Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser  
 100 105 110

Ser

<210> 144  
 <211> 702  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T15L light chain

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(60)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (61)..(387)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (388)..(702)

<400> 144  
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc 60  
 gatatccaga tgaccagtc accctccagt ctgagtcga gcgtcggcga tcgggtgaca 120  
 atcacatgta gggcatctca ggatatcggg aattacctta ggtggttcca gaaaagccc 180  
 ggaaaagctc ccaaactgtt gatttctggg gccaccaatc ttgccgcagg ggtgccctca 240  
 aggttctccg ggtccggcag cggatccgat tacccttga caatttctag tttgcagcct 300  
 gaggatttcg caacttacta ctgtcttcag agcaaggaat ctccatggac cttcggacag 360  
 gggactaaac tcgaaatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc 420  
 tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480  
 cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540  
 gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600  
 ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660  
 ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

<210> 145  
 <211> 702  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T18L light chain

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(60)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (61)..(387)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (388)..(702)

<400> 145  
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcataatggc 60  
 gatattcaga tgacacagag cccatcctcc cttagcgcac ccgttgggga tagagttacc 120  
 attacctgca gagccagcca ggacatcggc aactacctgc gctgggtcca gcagaagcct 180  
 ggcaaagcgc ccaaactgct tatcagcggg gccacaaacc tggccgccgg tgtgccctct 240  
 cggttcagcg ggtctggcag cgggagcgat ttcactctta caatatcttc ccttcagccc 300  
 gaagatttcg cgacatatta ctgcttgcaa tccaaggaaa gtccctggac attcggccaa 360  
 ggaactaaac tggaaattaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcac cttccccccc 420  
 tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480  
 cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540  
 gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600  
 ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660  
 ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

<210> 146  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T15L light chain

<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(20)

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (21)..(129)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (130)..(234)  
 <223> constant region

<400> 146

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
 1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
 20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
 35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Arg Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
 50 55 60

Lys Leu Leu Ile Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser  
 65 70 75 80  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser  
 85 90 95  
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys  
 100 105 110  
 Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125  
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140  
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160  
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 195 200 205  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 210 215 220  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

<210> 147  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T18L light chain

<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(20)

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (21)..(129)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (130)..(234)  
 <223> constant region

&lt;400&gt; 147

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
 1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
 20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp  
 35 40 45

Ile Gly Asn Tyr Leu Arg Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
 50 55 60

Lys Leu Leu Ile Ser Gly Ala Thr Asn Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser  
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Lys  
 100 105 110

Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

&lt;210&gt; 148

&lt;211&gt; 1386

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; h#11B7-T11H heavy chain

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(57)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (58)..(396)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (397)..(1386)

<400> 148  
 atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60  
 gttcaactgc agcagtgggg tgctggtctg ttgaagccaa gtgaaacctt gtctctgacc 120  
 tgcacagtca gcggatatag tattacatct aactactggg gctggatcag acagccccct 180  
 ggcaaggggc tggagtggat ggggtatatt acgtattctg ggtcaacatc ttataatccc 240  
 tccctgaagt cccgcattac catcagccgc gacacttcca agaaccagtt ttcacttaag 300  
 ctgtctagcg taacagccgc ggacactgca gtgtattatt gcgctattac cactttctat 360  
 tattgggggc agggcacgac ggtaacggtg agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgctc 420  
 ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctggcgcca cagccgccct gggctgcctg 480  
 gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc 540  
 ggcgtgcaca ctttccccgc tgtcctgcag tcctcaggac tctactcctc cagcagcgctg 600  
 gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaa 660  
 cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaa atctgtgacaa aactcacaca 720  
 tgcccaccct gccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttctc cttcccccca 780  
 aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840  
 gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900  
 aatgccaaaga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgctc 960  
 ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020  
 aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa 1080  
 ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1140  
 acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc 1200  
 cagcccagaga acaactacaa gaccaccctc cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttctc 1260  
 ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc 1320  
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc 1380  
 ggcaaa 1386

<210> 149  
 <211> 1386  
 <212> DNA  
 <213> Artificial



<220>  
 <223> h#11B7-T12H heavy chain

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(57)  
 <223> signal sequence

<220>  
 <221> V\_region  
 <222> (58)..(396)

<220>  
 <221> C\_region  
 <222> (397)..(1386)

<400> 149  
 atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60  
 gttcagctgc aacagtgggg agctgggttg ctgaagccaa gtgaaaccct gtcccttaca 120  
 tgtaccgtct ctggttacag tattacctcc aactactggg ggtggatcag acagcctcca 180  
 ggtaaagggc tggagtggat aggatatatt acctattccg gctccacgtc ttataatcca 240  
 tccctgaaat ctaggggtgac catctctagg gacacttcaa aaaatcaatt tagcctcaaa 300  
 ctttcttctg tcacagccgc cgataccgct gtctactact gtgcatcac cacattttac 360  
 tattggggcc aggggacaac agtgaccgtt agctcagcct ccaccaaggg cccaagcgtc 420  
 tttcccctgg caccctcctc caagagcacc tctggcggca cagccgccct gggctgcctg 480  
 gtcaaggact acttccccga acccgtgacc gtgagctgga actcaggcgc cctgaccagc 540  
 ggcgtgcaca ctttccccgc tgcctgcag tcctcaggac tctactcct cagcagcgtg 600  
 gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660  
 cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaatt cttgtgacaa aactcacaca 720  
 tgcccaccct gccagcacc tgaactcctg gggggaccct cagtcttctt cttcccccca 780  
 aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840  
 gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900  
 aatgccaaaga caaagccccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc 960  
 ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020  
 aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcca gccccgggaa 1080  
 ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1140  
 acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggc 1200  
 cagcccgaga acaactacaa gaccaccctt cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct 1260  
 ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggcaacgt cttctcatgc 1320  
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacaccaga agagcctctc cctgtctccc 1380  
 ggcaaa 1386

<210> 150

<211> 462  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T11H heavy chain

<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(19)

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (20)..(132)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (133)..(462)  
 <223> constant region

<400> 150

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
 1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys  
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
 35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60

Glu Trp Met Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Ala Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val  
 115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175

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

|            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |  |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|--|
| 180        |            |            |            |            |            |            | 185        |            |            |            |            | 190        |            |            |            |  |
| Gly        | Leu        | Tyr<br>195 | Ser        | Leu        | Ser        | Ser        | Val<br>200 | Val        | Thr        | Val        | Pro        | Ser<br>205 | Ser        | Ser        | Leu        |  |
| Gly        | Thr<br>210 | Gln        | Thr        | Tyr        | Ile        | Cys<br>215 | Asn        | Val        | Asn        | His        | Lys<br>220 | Pro        | Ser        | Asn        | Thr        |  |
| Lys<br>225 | Val        | Asp        | Lys        | Arg        | Val<br>230 | Glu        | Pro        | Lys        | Ser        | Cys<br>235 | Asp        | Lys        | Thr        | His        | Thr<br>240 |  |
| Cys        | Pro        | Pro        | Cys        | Pro<br>245 | Ala        | Pro        | Glu        | Leu        | Leu<br>250 | Gly        | Gly        | Pro        | Ser        | Val<br>255 | Phe        |  |
| Leu        | Phe        | Pro        | Pro<br>260 | Lys        | Pro        | Lys        | Asp        | Thr<br>265 | Leu        | Met        | Ile        | Ser        | Arg<br>270 | Thr        | Pro        |  |
| Glu        | Val        | Thr<br>275 | Cys        | Val        | Val        | Val        | Asp<br>280 | Val        | Ser        | His        | Glu        | Asp<br>285 | Pro        | Glu        | Val        |  |
| Lys        | Phe<br>290 | Asn        | Trp        | Tyr        | Val        | Asp<br>295 | Gly        | Val        | Glu        | Val        | His<br>300 | Asn        | Ala        | Lys        | Thr        |  |
| Lys<br>305 | Pro        | Arg        | Glu        | Glu        | Gln<br>310 | Tyr        | Asn        | Ser        | Thr        | Tyr<br>315 | Arg        | Val        | Val        | Ser        | Val<br>320 |  |
| Leu        | Thr        | Val        | Leu        | His<br>325 | Gln        | Asp        | Trp        | Leu        | Asn<br>330 | Gly        | Lys        | Glu        | Tyr        | Lys<br>335 | Cys        |  |
| Lys        | Val        | Ser        | Asn<br>340 | Lys        | Ala        | Leu        | Pro        | Ala<br>345 | Pro        | Ile        | Glu        | Lys        | Thr<br>350 | Ile        | Ser        |  |
| Lys        | Ala        | Lys<br>355 | Gly        | Gln        | Pro        | Arg        | Glu<br>360 | Pro        | Gln        | Val        | Tyr        | Thr<br>365 | Leu        | Pro        | Pro        |  |
| Ser        | Arg<br>370 | Glu        | Glu        | Met        | Thr        | Lys<br>375 | Asn        | Gln        | Val        | Ser        | Leu<br>380 | Thr        | Cys        | Leu        | Val        |  |
| Lys<br>385 | Gly        | Phe        | Tyr        | Pro        | Ser<br>390 | Asp        | Ile        | Ala        | Val        | Glu<br>395 | Trp        | Glu        | Ser        | Asn        | Gly<br>400 |  |
| Gln        | Pro        | Glu        | Asn<br>405 | Asn        | Tyr        | Lys        | Thr        | Thr        | Pro<br>410 | Pro        | Val        | Leu        | Asp        | Ser<br>415 | Asp        |  |
| Gly        | Ser        | Phe<br>420 | Phe        | Leu        | Tyr        | Ser        | Lys        | Leu<br>425 | Thr        | Val        | Asp        | Lys        | Ser<br>430 | Arg        | Trp        |  |
| Gln        | Gln        | Gly<br>435 | Asn        | Val        | Phe        | Ser        | Cys<br>440 | Ser        | Val        | Met        | His        | Glu<br>445 | Ala        | Leu        | His        |  |
| Asn        | His<br>450 | Tyr        | Thr        | Gln        | Lys        | Ser<br>455 | Leu        | Ser        | Leu        | Ser        | Pro<br>460 | Gly        | Lys        |            |            |  |

<210> 151  
 <211> 462  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> h#11B7-T12H heavy chain

<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)..(19)

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (20)..(132)  
 <223> variable region

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (133)..(462)  
 <223> constant region

<400> 151

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
 1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys  
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile  
 35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Ala Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val  
 115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220  
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

<210> 152  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Primer kappa\_GSP1

<400> 152  
 gatgatgca ttggtgcagc 20

<210> 153  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Primer new\_kappa\_GSP1

<400> 153  
 atagatacag ttggtgcagc 20

<210> 154  
 <211> 19  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Primer heavy\_GSP1

<400> 154  
 cagggtcacc atggagtta 19

<210> 155  
 <211> 32  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Primer XhoI-hGSP2

<400> 155  
 ccgctcgagc gggccagtgg atagacagat gg 32

<210> 156  
 <211> 32  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Primer XhoI-kGSP2

<400> 156  
 ccgctcgagc ggccgtttca gctccagctt gg 32

<210> 157  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Primer RT-gamma  
 <400> 157  
 gcgtgtagtg gttgtgcaga g 21

<210> 158  
 <211> 16  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Primer RT-gamma2  
 <400> 158  
 gggcttgccg gccgtg 16

<210> 159  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Primer RT-kappa  
 <400> 159  
 tggaactgag gaggcaggtg 20

<210> 160  
 <211> 39  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Primer 5'B1p  
 <400> 160  
 agataagctt tgctcagcgt ccaccaaggg cccatcggt 39

<210> 161  
 <211> 34  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Primer 3'Bam(GAG)  
 <400> 161  
 agatggatcc tcatttacct ggagacaggg agag 34

<210> 162  
 <211> 39  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Primer 5'Bsi  
 <400> 162  
 agataagctt cgtacgggtg ctgcaccatc tgtcttcat 39

<210> 163

<211> 36  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Primer 3'Bam (CTT)  
  
 <400> 163  
 agatggatcc ctaacactct cccctgttga agctct 36

<210> 164  
 <211> 42  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Primer VL-11B7-5'  
  
 <400> 164  
 agataagctt gtgcattccg acatccagat gaccaggct cc 42

<210> 165  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Primer VL-11B7-3'  
  
 <400> 165  
 agatcgtagc ttccagctcc agcttggtgc ctc 33

<210> 166  
 <211> 45  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Primer VL-11D5-5'  
  
 <400> 166  
 agataagctt gtgcattccg acatccagat gaccagtct ccatc 45

<210> 167  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Primer VL-11D5-3'  
  
 <400> 167  
 agatcgtagc ttccagcttg gtcccag 27

<210> 168  
 <211> 42  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Primer VH-11b7/11D5-5'  
  
 <400> 168  
 agataagctt gtgcattccg aggtgcagct tcaggagtca gg 42



<210> 169  
<211> 36  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> Primer VH-11B7/11D5-3'

<400> 169  
agatgctgag ctgacagtga ccatgactcc ttggcc

36

Антитело      CDR (гипервариабельный участок)      Последовательность

|                   |    |                  |
|-------------------|----|------------------|
| 11B7 Легкая Цепь  | L4 | RASQDIGNYLR      |
| 11B7 Легкая Цепь  | L5 | GATNLAA          |
| 11B7 Легкая Цепь  | L6 | LQSKESPWT        |
| 11B7 Тяжелая Цепь | H1 | SNYWG            |
| 11B7 Тяжелая Цепь | H2 | YITYSGSTSYNPSLKS |
| 11B7 Тяжелая Цепь | H3 | ----TTFYY        |
| 11D5 Легкая Цепь  | L4 | RASQDIGNYLS      |
| 11D5 Легкая Цепь  | L5 | GAIKLAV          |
| 11D5 Легкая Цепь  | L6 | LQYIQFPLT        |
| 11D5 Тяжелая Цепь | H1 | SNYWG            |
| 11D5 Тяжелая Цепь | H2 | HITNSGNTTYNPSLKS |
| 11D5 Тяжелая Цепь | H3 | ----GAFDY        |

### **Лидерная Последовательность**

### **Нуклеотидная Последовательность**

1 ATGGGTGACAATGACATCCACTTTGCCTTTCTCTCCACAGG  
TGTGCATTCC 52

Аминокислотная Последовательность

1 MGDNDIHFAFLSTGVHS17

**#11B7-химерная легкая цепь**

DIQMTQAPSSLPASLGDRVITICRASQDIGNYLRWFQKK  
 PGKSPRLMISGATNLAAGVPSRFSGSRSGSDYSLTISSLE  
 SEDMADYYCLQSKESPWTFGGGKLELKRTVAAPSVFIF  
 PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS  
 GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE  
 VTHQGLSSPVTKSFNREGC

**#11B7-химерная тяжелая цепь**

EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSNYWGWIRK  
 FPGDKMEWMGYITYSGSTSYNPSLKSRIISITRDTSKNQF  
 FLQLNSVTSEDTATYYCAITTFYYWGQGVMVTVSSASTK  
 GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS  
 GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC  
 NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP  
 SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW  
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL  
 NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP  
 SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY  
 KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMH  
 EALHNHYTQKSLSLSPGK

**#11D5-химерная легкая цепь**

DIQMTQSPSSMSTSLGDRVITICRASQDIGNYLSWFQKK  
 VGKSPRRMIYGAIKLAVGVPSRFSGSRSGSDYSLTISSLE  
 SEDMAIYYCLQYIQFPLTFGSGTKLELKRTVAAPSVFIFP  
 PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG  
 NSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEV  
 THQGLSSPVTKSFNREGC

**#11D5-химерная тяжелая цепь**

EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSNYWGWIRK  
 FPGNKMEWIGHITNSGNTTYNPSLKSRIISIRDTSRNQF  
 FLQLNSVTTEDTATYYCAKGAFDYWGQGVMVTVSSAST  
 KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN

SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI  
 CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG  
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN  
 WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW  
 LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLR  
 PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY  
 KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMH  
 EALHNHYTQKSLSLSPGK

**11B7-КРЫСЫ, ВАРИАБЕЛЬНЫЙ УЧАСТОК ЛЕГКОЙ ЦЕПИ**

DIQMTQAPSSLPASLGDRVTITCRASQDIGNYLRWFQQKPGKSPRLMISGATN  
 LAAGVPSRFSGSRSGSDYSLTISSELEDMADYYCLQSKESPWTFGGGKLEL  
 KR

**11B7-КРЫСЫ, ВАРИАБЕЛЬНЫЙ УЧАСТОК ТЯЖЕЛОЙ ЦЕПИ**

EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSNYWGWIRKFPKDKMEWMGYIT  
 YSGSTSYNPSLKSRSITRDTSKNQFFLQLNSVTSEDTATYYCAITTFYYWGQG  
 VMVTVSS

**11D5-КРЫСЫ, ВАРИАБЕЛЬНЫЙ УЧАСТОК ЛЕГКОЙ ЦЕПИ**

DIQMTQSPSSMSTSLGDRVTITCRASQDIGNYLSWFQQKVGKSPRRMIYGAIK  
 LAVGVPSRFSGSRSGSDYSLTISSELEDMADYYCLQYIQFPLTFGSGTKLELK  
 R

**11D5-КРЫСЫ, ВАРИАБЕЛЬНЫЙ УЧАСТОК ТЯЖЕЛОЙ ЦЕПИ**

EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSNYWGWIRKFPKDKMEWIGHIT  
 NSGNTTYNPSLKSRSISRDTSRNQFFLQLNSVTSEDTATYYCAKGAFDYWG  
 QGVMVTVSS

h#11B7-T1L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWYQQKPGKAPKLLISGATN  
LAAGVPSRFSGTGSGTDFTFTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGGGKTKVEIK  
RT

h#11B7-T2L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWFQQKPGKAPKLMISGAT  
NLAAGVPSRFSGTGSGTDYFTFTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGGGKTKVE  
IKRT

h#11B7-T3L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWFQQKPGKAPKLMISGAT  
NLAAGVPSRFSGSRGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGGGKTKVE  
IKRT

h#11B7-T4L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWYQQKPGKAPKLLISGATN  
LAAGVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKLEIK  
RT

h#11B7-T5L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWFQQKPGKAPKLMISGAT  
NLAAGVPSRFSGSGSGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKLEI  
KRT

h#11B7-T6L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWFQQKPGKAPKLMISGAT  
NLAAGVPSRFSGSGSGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKVE  
IKRT

h#11B7-T7L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWYQQKPGKAPKLMISGAT  
NLAAGVPSRFSGSGSGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKVE  
IKRT

Фиг. 1

h#11B7-T8L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWFQQKPGKAPKLLISGATN  
LAAGVPSRFSGSGSGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKVEI  
KRT

h#11B7-T9L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWFQQKPGKAPKLMISGAT  
NLAAGVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKVEI  
KRT

h#11B7-T10L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWYQQKPGKAPKLLISGATN  
LAAGVPSRFSGSGSGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKVEI  
KRT

h#11B7-T11L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWFQQKPGKAPKLLISGATN  
LAAGVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKVEIK  
RT

h#11B7-T12L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWYQQKPGKAPKLMISGAT  
NLAAGVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKVEI  
KRT

h#11B7-T13L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWYQQKPGKAPKLLISGATN  
LAAGVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKVEIK  
RT

h#11B7-T14L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWYQQKPGKAPKLMISGAT  
NLAAGVPSRFSGSGSGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKLEI  
KRT

Фиг. 2

h#11B7-T15L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWFQQKPGKAPKLLISGATN  
LAAGVPSRFSGSGSGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKLEIK  
RT

h#11B7-T16L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWFQQKPGKAPKLMISGAT  
NLAAGVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKLEI  
KRT

h#11B7-T17L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWYQQKPGKAPKLLISGATN  
LAAGVPSRFSGSGSGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKLEIK  
RT

h#11B7-T18L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWFQQKPGKAPKLLISGATN  
LAAGVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKLEIK  
RT

h#11B7-T19L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWYQQKPGKAPKLMISGAT  
NLAAGVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKLEI  
KRT

h#11B7-T20L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWYQQKPGKAPKLLISGATN  
LAAGVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPWTFGQGTKLEIK  
RT

Фиг. 3

h#11B7-T1H

QIQLQESGPGLVKPSQTLSTCAVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGYITY  
SGSTSYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAITTFYYWGQG  
TLVTVSS

h#11B7-T2H

QIQLQESGPGLVKPSQTLSTCAVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWMGYIT  
YSGSTSYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAITTFYYWGQ  
GTLVTVSS

h#11B7-T3H

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCAVSGYSITSNYWGWIRKPPGDGLEWMGYIT  
YSGSTSYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAITTFYYWGQ  
GTLVTVSS

h#11B7-T4H

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGYIT  
YSGSTSYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAITTFYYWGQ  
GTLVTVSS

h#11B7-T5H

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWMGYI  
TYSGSTSYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAITTFYYWG  
QGTLVTVSS

h#11B7-T6H

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWMGYIT  
YSGSTSYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAITTFYYWGQ  
GTLVTVSS

Фиг. 4



h#11B7-T7H

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGYITY  
SGSTSYNPSLKSRSISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAITTFYYWGQG  
TLVTVSS

h#11B7-T8H

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWMGYIT  
YSGSTSYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAITTFYYWGQ  
GTLVTVSS

h#11B7-T9H

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGYITY  
SGSTSYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAITTFYYWGQG  
TLVTVSS

h#11B7-T10H

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGYIT  
YSGSTSYNPSLKSRSISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAITTFYYWGQ  
GTTVTVSS

h#11B7-T11H

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWMGYI  
TYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAITTFYYWG  
QGTTVTVSS

h#11B7-T12H

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGYIT  
YSGSTSYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAITTFYYWGQ  
GTTVTVSS

Фиг. 5

h#11D5-T1L

DVQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPKLLIYGAI  
KLAVGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKLEI  
KRT

h#11D5-T2L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPRLMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKLEIK  
RT

h#11D5-T3L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDIGNYLSWFQQKVGKSPRRMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSRSGSDYTLTISLQPEDFAIYYCLQYIQFPLTFGSGTKLEIKR  
T

h#11D5-T4L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPKRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGGGTKVEIK  
RT

h#11D5-T5L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPRRMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGGGTKVEIK  
RT

h#11D5-T6L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPRRMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

h#11D5-T7L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPKRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

Фиг. 6

h#11D5-T8L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPKRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

h#11D5-T9L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPRRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

h#11D5-T10L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPKRMIYGAIK  
KLAVGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
KRT

h#11D5-T11L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPKRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

h#11D5-T12L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPKRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

h#11D5-T13L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPRRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

h#11D5-T14L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPKRMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

Фиг. 7

h#11D5-T15L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPKRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEIK  
RT

h#11D5-T16L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPKRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEIK  
RT

h#11D5-T17L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPRRMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEIK  
RT

h#11D5-T18L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPRRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEIK  
RT

h#11D5-T19L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPRRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEIK  
RT

h#11D5-T20L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPKRMIYGAI  
KLAVGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEI  
KRT

h#11D5-T21L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPKRMIYGAI  
KLAVGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEI  
KRT

Фиг. 8

h#11D5-T22L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPKRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

h#11D5-T23L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPRRMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

h#11D5-T24L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPRRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

h#11D5-T25L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPRRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

h#11D5-T26L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPKRMIIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

h#11D5-T27L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPKRMIIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

h#11D5-T28L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPKRLIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGTKVEIK  
RT

Фиг. 9

h#11D5-T29L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPRRMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEIK  
RT

h#11D5-T30L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPRRMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEYTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEIK  
RT

h#11D5-T31L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPRRMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEIK  
RT

h#11D5-T32L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPKRMIYGAI  
KLAVGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEI  
KRT

h#11D5-T33L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPRRMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEIK  
RT

h#11D5-T34L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPRRMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTEYTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEIK  
RT

h#11D5-T35L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPRRMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEIK  
RT

Фиг. 10

h#11D5-T36L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQDIGNYLSWFQQKPGKAPKRMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEIK  
RT

h#11D5-T37L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQDIGNYLSWYQQKPGKAPRRMIYGAIK  
LAVGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCLQYIQFPLTFGQGGTKVEIK  
RT

Фиг. 11

h#11D5-T1H  
QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGMGLEWIGHIT  
NSGNTTYNPSLKSRTISVDTSENQFSLKLSSVTPADTAVYYCAKGAFDYWG  
QGTLVTVSS

h#11D5-T2H  
EVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGMGLEWIGHITN  
SGNTTYNPSLKSRTISVDTSENQFSLKLSSVTPADTAVYYCAKGAFDYWGQ  
GTLVTVSS

h#11D5-T3H  
EVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYSITSNYWGWIRKFPGNKMEWIGHIT  
NSGNTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTPADTAVYYCAKGAFDYWG  
QGTLVTVSS

h#11D5-T4H  
QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGHIT  
NSGNTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAKGAFDYW  
QGTLVTVSS

h#11D5-T5H  
EVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGHIT  
NSGNTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAKGAFDYWG  
QGTLVTVSS

h#11D5-T6H  
EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGHITN  
SGNTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAKGAFDYWGQ  
GTLVTVSS

h#11D5-T7H  
QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGHITN  
SGNTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAKGAFDYWG  
QGTLVTVSS

Фиг. 12

h#11D5-T8H

EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGHITNS  
GNTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAKGAFDYWGQG  
TLVTVSS

h#11D5-T9H

QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGHITN  
SGNTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAKGAFDYWGQ  
GTLVTVSS

h#11D5-T10H

QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGHITN  
SGNTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAKGAFDYWGQ  
GTLVTVSS

h#11D5-T11H

EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGHITNS  
GNTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAKGAFDYWGQG  
TLVTVSS

h#11D5-T12H

EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGHITNS  
GNTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAKGAFDYWGQG  
TLVTVSS

h#11D5-T13H

QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWIGHITN  
SGNTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAKGAFDYWGQG  
TLVTVSS

Фиг. 13



## Праймер EFF1

ссасgcgcccctgtagcggcgcatgaagc

## Праймер EFsmaR

ааасccgggagctttttgcaaaagcctagg

## Фрагмент В

ggtagccccaagctggctaggaagcttgtagcgccaccatgggtgctgcagaccaggtgtcatctccctgctgctgtg  
gatctccggcgcatatggcgatcgtgatgattaaacgtacgggtggccgccccctccgtgtcatctccccccctccgac  
gagcagctgaagtcgggaccgcctccgtgggtgctgtaataactttaccccagagaggccaaggtgcagtgga  
ggtagacaacgcccctgcagtcgggaactcccaggagagcgtgaccgagcaggacagcaaggacagcacctacagcc  
tgagcagcacctgacccctgagcaaaagccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaggtgacccaccaggggcc  
tgagctccccctgaccaagagcttaacaggggggagtgtagggggccggttaaacgggtggcatccctgtgacccct  
ccccagtgctctcctggccctggaagtggccactccagtgccaccagccttgcttaataaaattaagtgtcatcattttgt  
ctgactaggtgtccttctataatattatgggggtggaggggggtggatggagcaaggggcaagttgggaagacaacctgta  
gggctgcggggtctattgggaaccaagctggagtgcagtggcacaatcttggtcactgcaatctccgctcctgggttc  
aagcgattctcctgcctcagcctcccgagttgttggaatccaggtcatgaccaggctcacctaattttgtttttgtag  
agacgggggttaccatattggccaggctgggtcctcaactcctaattcaggtgatctaccaccttgccctccaaattgt  
gggattacaggcgtgaaccactgtccacgcgccctgtagcggcgcatgaagcgcggcggtgtggtgttacgcgcag  
cgtgaccgtacacttgccagcgccctagcggcgctccttccgtttctccttctccttctcgcacgttcgcgggttccc  
cgtcaagctctaaatcgggggtccttttaggttccgatttagtctttacggcacctcgaccccaaaaaacttgattagg  
tgatgggtcacgtagtgggcatcgccctgatagacgggttttgcctttgacgttgaggtccacgttcttaatagtgactc  
ttgtccaaactggaacaactcaaccctatctcggtctattcttttgattataagggttttgcgatttcggcctattggtaa  
aaaatgagctgatttaacaaaaatgaacgcgaattaattctgtggaatgtgtgtcagttagggtgtgaaagtcagggtc  
cccagcaggcagaagtatgcaaagcatgcatctcaattagtcagcaaccagggtgtgaaagtcccagggtcccagca  
ggcagaagtatgcaaagcatgcatctcaattagtcagcaaccatagtcggccctcaactccgcccattcccggcctaact  
ccgcccagttccgcccattctcgcccattggctgactaatttttttattatgcagaggccgaggccgctctgcctctgag  
ctattccagaagtagtgaggaggtttttggaggcctaggcttttgcaaaaagctcccggg

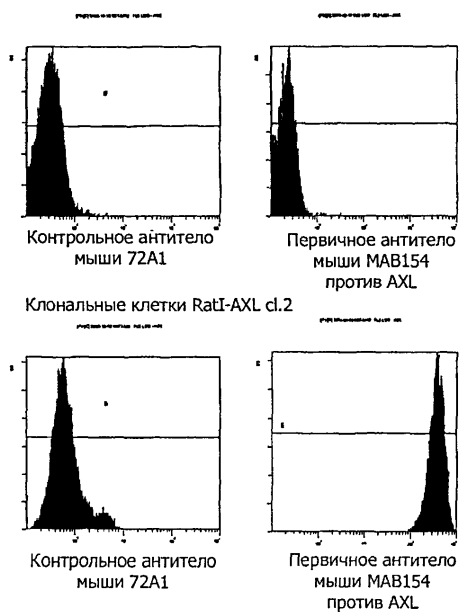
## сигнал IgG1 человека + константный участок IgG1 человека

tgtagcgccaccatgaacacactgtggttcttctcctgctggtggcagctcccagatgggtgctgagccaggtgcaattg  
tgtagcggttagctcagcctccaccaaggggcccaagcgttccccctggcaccctcctcaagagcacctctggcggc  
acagccgcccctgggctgctggtcaaggactacttccccgaaccgtagcctgagctggaactcaggcgccctgacca  
gcggcggtgcacaccttccccgctgtcctgcagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgcccctcagca  
gcttgggacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaacaccaaggtggacaagagagttgagccaa  
atcttgtgacaaaactcacacatgcccacccctgcccagcacctgaactcctggggggaccctcagcttctcttccccca  
aaaccaaggacaccctcatgatctccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccctg  
aggtcaagttcaactggtagctggacggcggtggaggtgcataatgccaagacaaagccccgggaggagcagtacaaca  
gcaggtaccgggtggtcagcgtcctcaccgtcctgaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctcc  
aacaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcaaaagccaaaggccagccccgggaaccacaggtgtacacc  
ctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtcagcctgacctgcttggtcaaaaggcttctatcccagcgacat  
cgccgtggagtgaggagcaatggccagcccagaaactacaagaccacccctcccgtgctggactccgacggctc  
cttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggaacgttctctatgctccgtgatgcatga  
ggctctgcacaaccactacaccagaagagcctctcctgtctcccgcaaatgagatatggggccggttaaacgggtgg  
ca

Фиг. 14

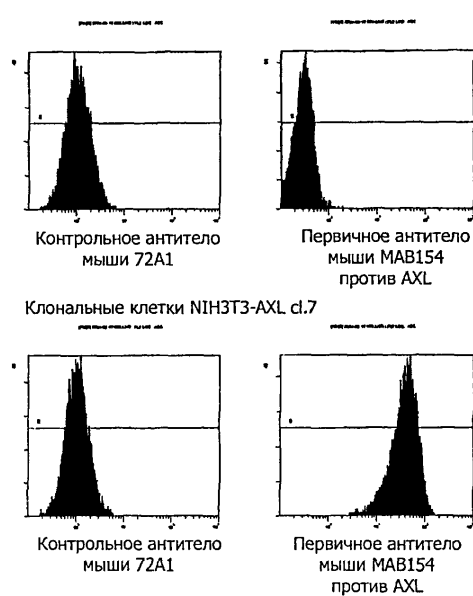
А

Поликлональные фибробласты Rat1-Mock

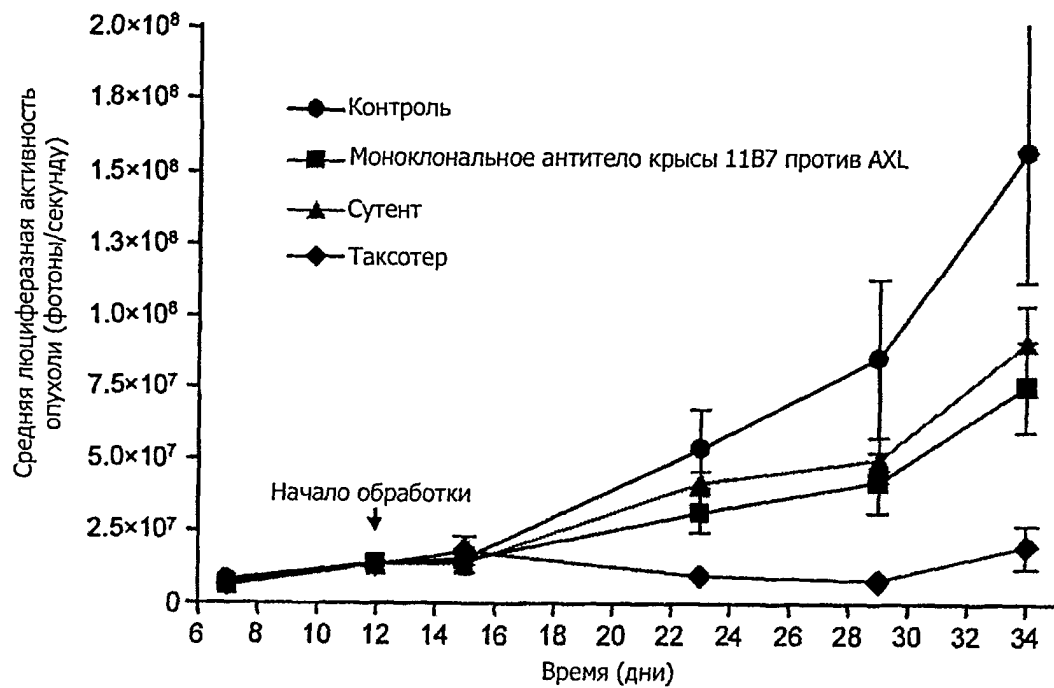


В

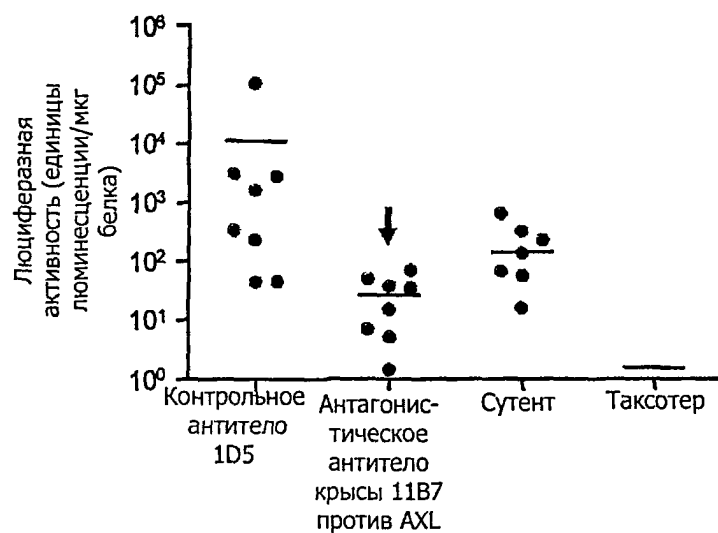
Поликлональные фибробласты NIH3T3-pLXSN



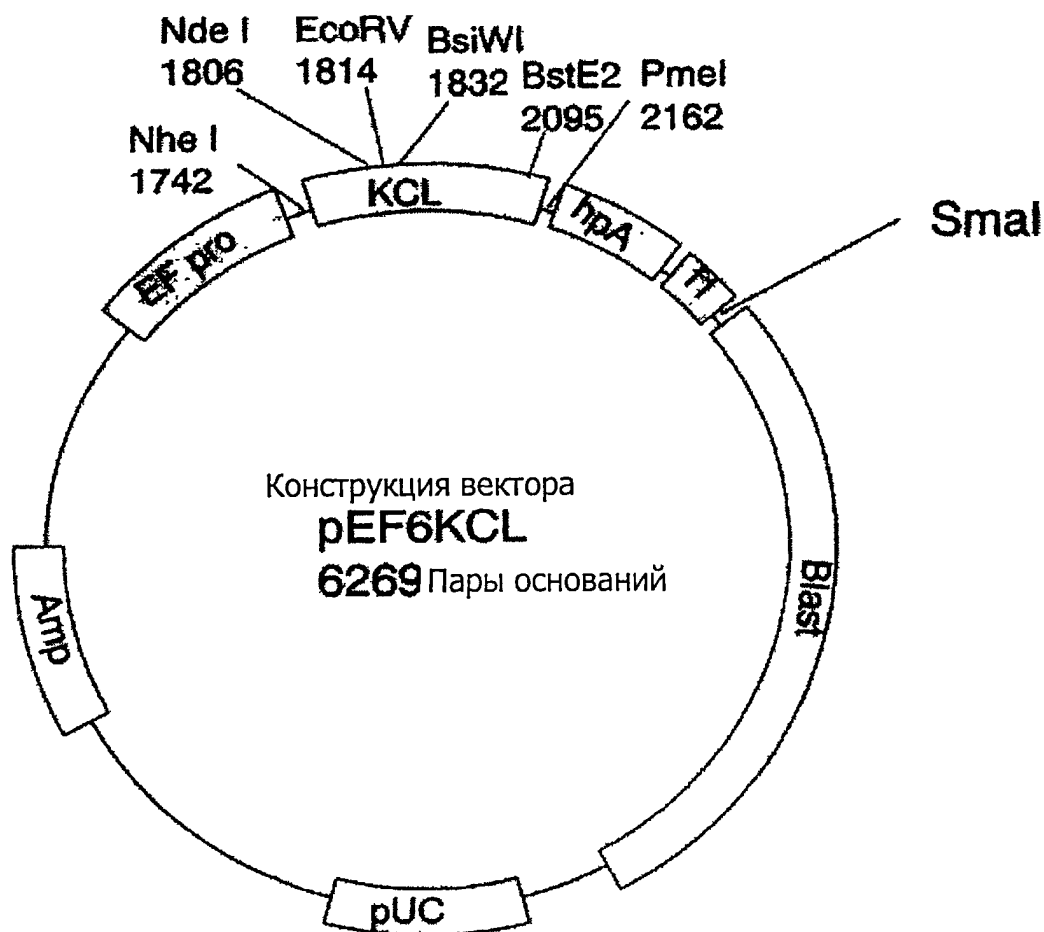
Фиг. 15



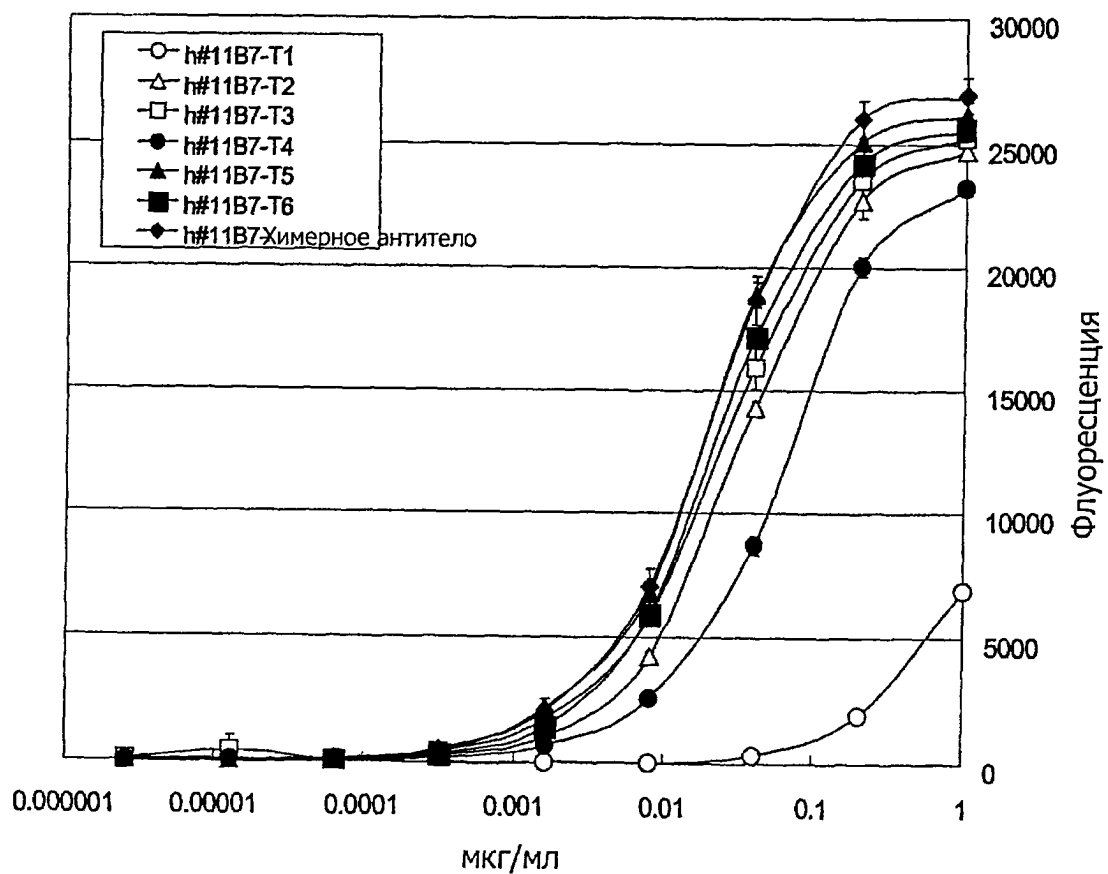
Фиг. 16



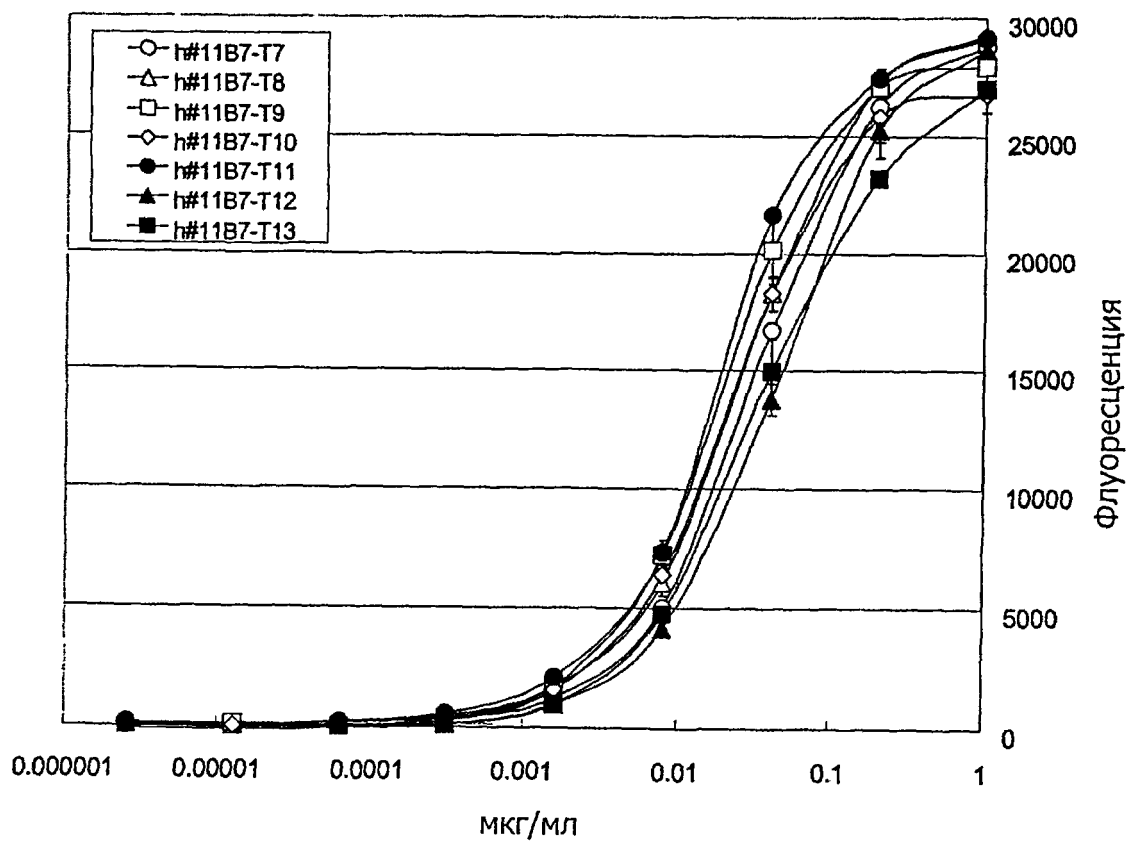
Фиг. 17



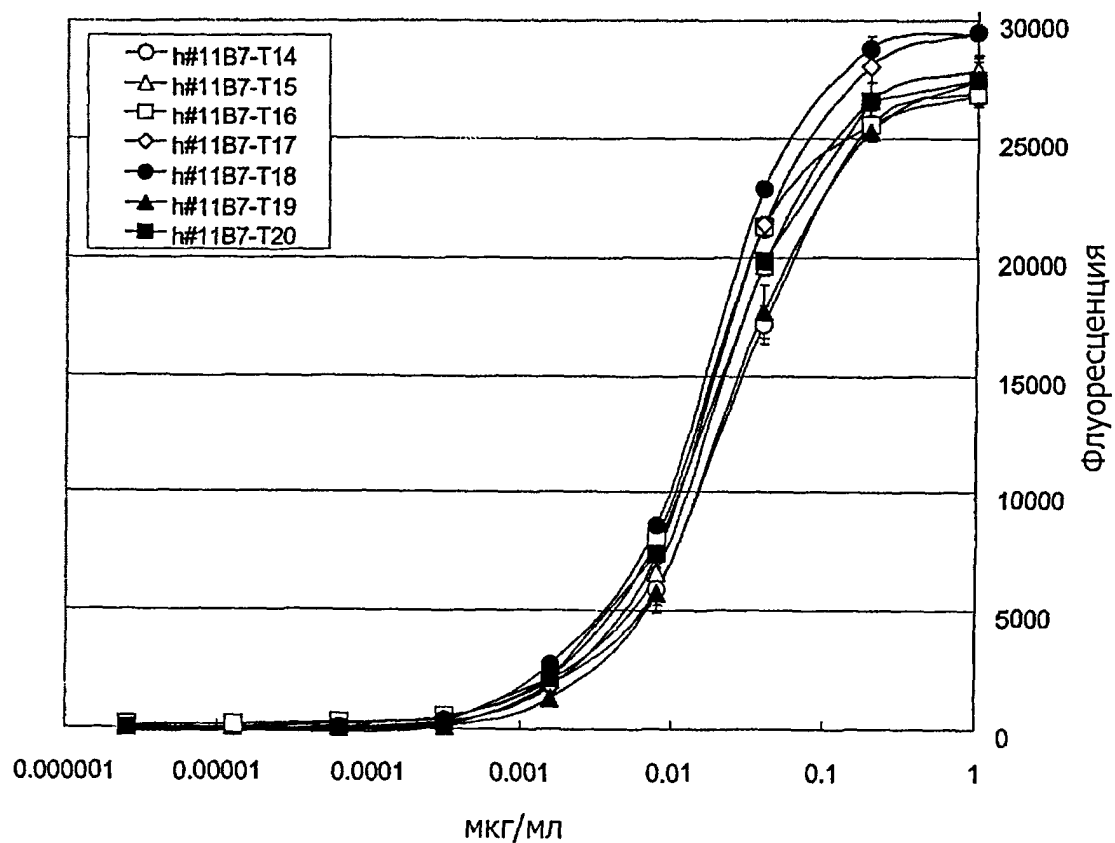
Фиг. 18



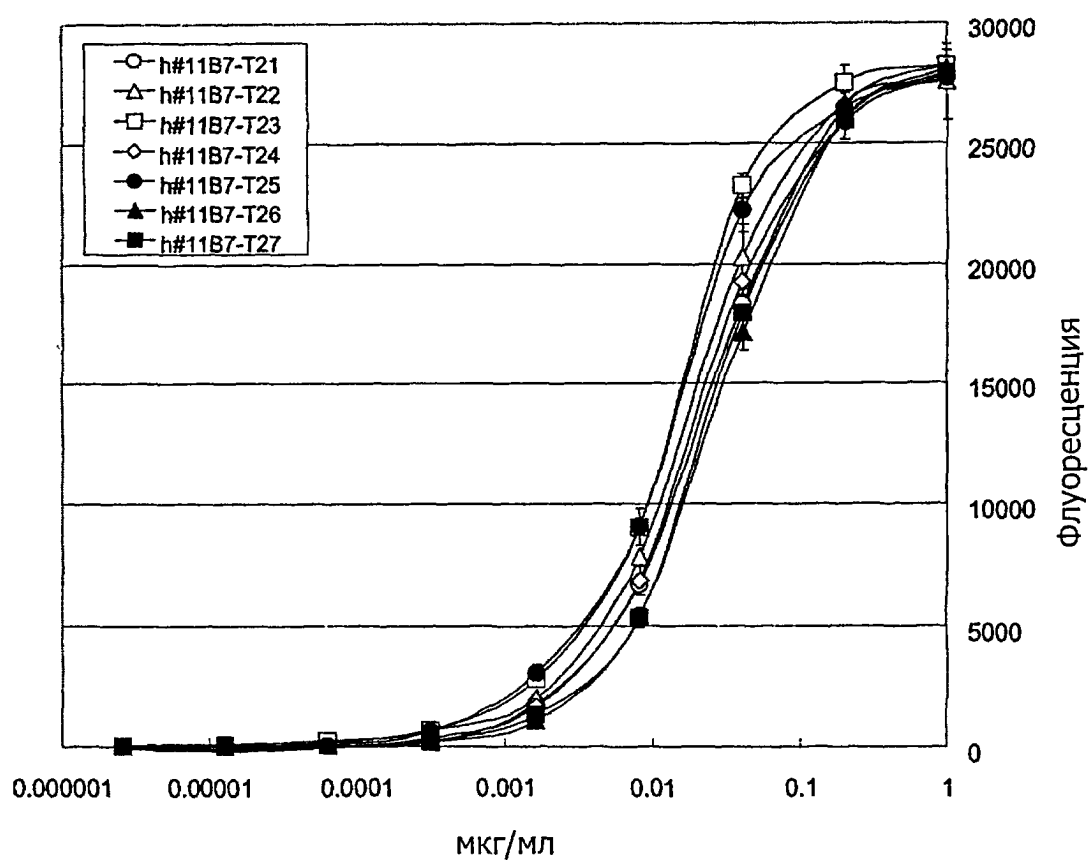
Фиг. 19



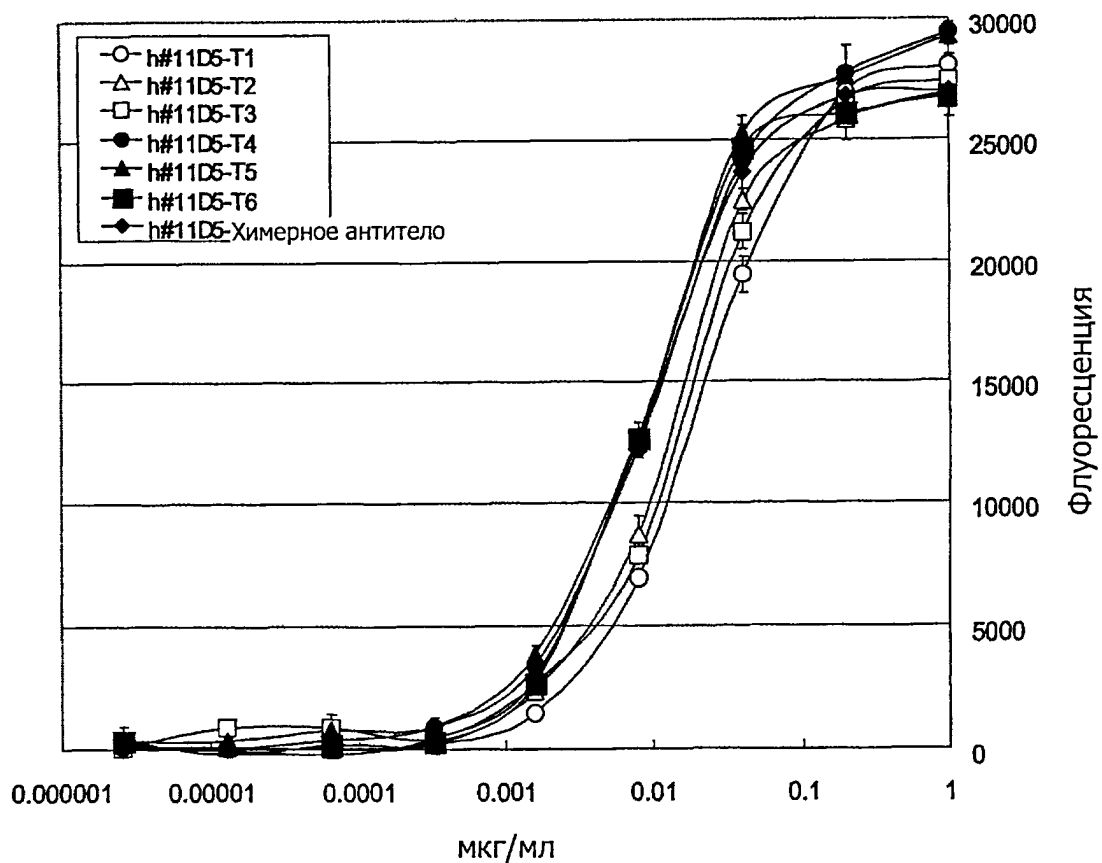
Фиг. 20



Фиг. 21



Фиг. 22



Фиг. 23

|     | Поглощение<br>при 280 нм | Разведение | Концентрация белка<br>(мг/мл) | Коэффициент<br>поглощения (поглощение<br>при 280 нм/мг/мл) |
|-----|--------------------------|------------|-------------------------------|--|
| T1  | 0.30                     | 1          | 0.20                          | 1.538  |
| T2  | 0.41                     | 2.5        | 0.66                          | 1.537  |
| T3  | 0.68                     | 1          | 0.44                          | 1.535  |
| T4  | 0.50                     | 2          | 0.62                          | 1.611  |
| T5  | 0.36                     | 2.9        | 0.65                          | 1.61   |
| T6  | 0.51                     | 2          | 0.67                          | 1.535  |
| T7  | 0.98                     | 11         | 6.9                           | 1.556  |
| T8  | 0.78                     | 10.1       | 5.1                           | 1.556  |
| T9  | 0.62                     | 22.5       | 9.5                           | 1.516  |
| T10 | 1.17                     | 10.2       | 7.7                           | 1.557  |
| T11 | 0.71                     | 20.4       | 0.6                           | 1.516  |
| T12 | 0.59                     | 10.0       | 3.9                           | 1.536  |
| T13 | 0.22                     | 26.4       | 3.8                           | 1.536  |
| T14 | 0.80                     | 10.6       | 5.5                           | 1.555  |

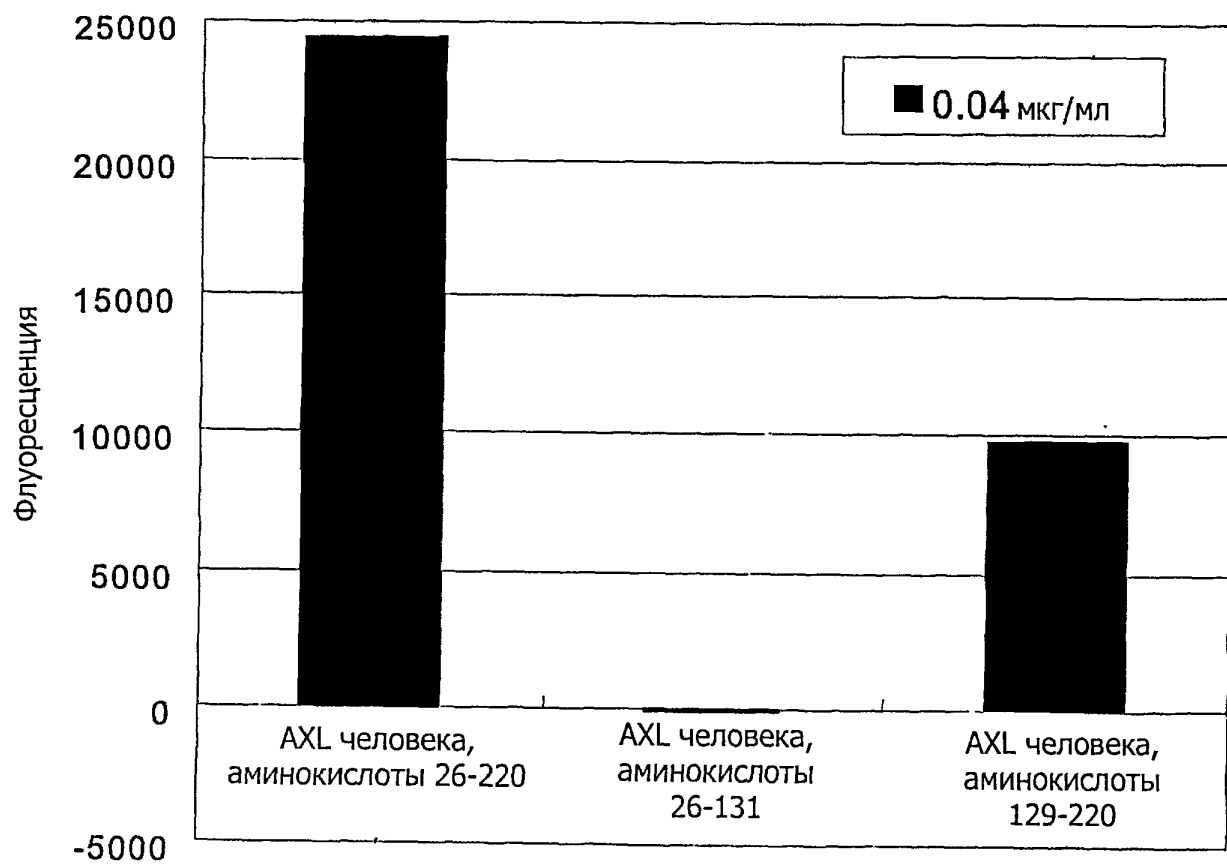
Фиг. 24

|            | Поглощение<br>при 280 нм | Разведение  | Концентрация<br>белка (мг/мл) | Коэффициент поглощения<br>(поглощение при 280 нм/мг/мл) |
|------------|--------------------------|-------------|-------------------------------|---|
| <b>T15</b> | <b>0.66</b>              | <b>11.0</b> | <b>4.7</b>                    | <b>1.535</b>  |
| <b>T16</b> | <b>0.56</b>              | <b>20.9</b> | <b>7.8</b>                    | <b>1.515</b>  |
| <b>T17</b> | <b>0.99</b>              | <b>10.7</b> | <b>7.0</b>                    | <b>1.515</b>  |
| <b>T18</b> | <b>0.46</b>              | <b>24.3</b> | <b>7.4</b>                    | <b>1.515</b>  |
| <b>T19</b> | <b>0.68</b>              | <b>10.8</b> | <b>4.8</b>                    | <b>1.535</b>  |
| <b>T20</b> | <b>0.64</b>              | <b>10.4</b> | <b>4.3</b>                    | <b>1.535</b>  |
| <b>T21</b> | <b>0.60</b>              | <b>11.5</b> | <b>4.4</b>                    | <b>1.556</b>  |
| <b>T22</b> | <b>0.45</b>              | <b>11.5</b> | <b>3.4</b>                    | <b>1.536</b>  |
| <b>T23</b> | <b>0.98</b>              | <b>10.6</b> | <b>6.8</b>                    | <b>1.515</b>  |
| <b>T24</b> | <b>0.62</b>              | <b>10.8</b> | <b>4.3</b>                    | <b>1.556</b>  |
| <b>T25</b> | <b>0.93</b>              | <b>10.7</b> | <b>6.6</b>                    | <b>1.516</b>  |
| <b>T26</b> | <b>0.65</b>              | <b>10.5</b> | <b>4.4</b>                    | <b>1.536</b>  |
| <b>T27</b> | <b>0.73</b>              | <b>10.8</b> | <b>5.2</b>                    | <b>1.536</b>  |

Фиг. 24 (продолжение)

|           | Поглощение<br>при 280 нм | Разведение  | Концентрация<br>белка (мг/мл) | Коэффициент поглощения<br>(поглощение при 280 нм/мг/мл) |
|-----------|--------------------------|-------------|-------------------------------|---|
| <b>T1</b> | <b>0.55</b>              | <b>14.4</b> | <b>5.5</b>                    | <b>1.437</b>  |
| <b>T2</b> | <b>0.70</b>              | <b>10.3</b> | <b>5.0</b>                    | <b>1.438</b>  |
| <b>T3</b> | <b>0.56</b>              | <b>3.9</b>  | <b>1.5</b>                    | <b>1.432</b>  |
| <b>T4</b> | <b>0.60</b>              | <b>4.0</b>  | <b>1.6</b>                    | <b>1.514</b>  |
| <b>T5</b> | <b>0.43</b>              | <b>4.1</b>  | <b>1.2</b>                    | <b>1.513</b>  |
| <b>T6</b> | <b>0.83</b>              | <b>5.0</b>  | <b>2.9</b>                    | <b>1.437</b>  |

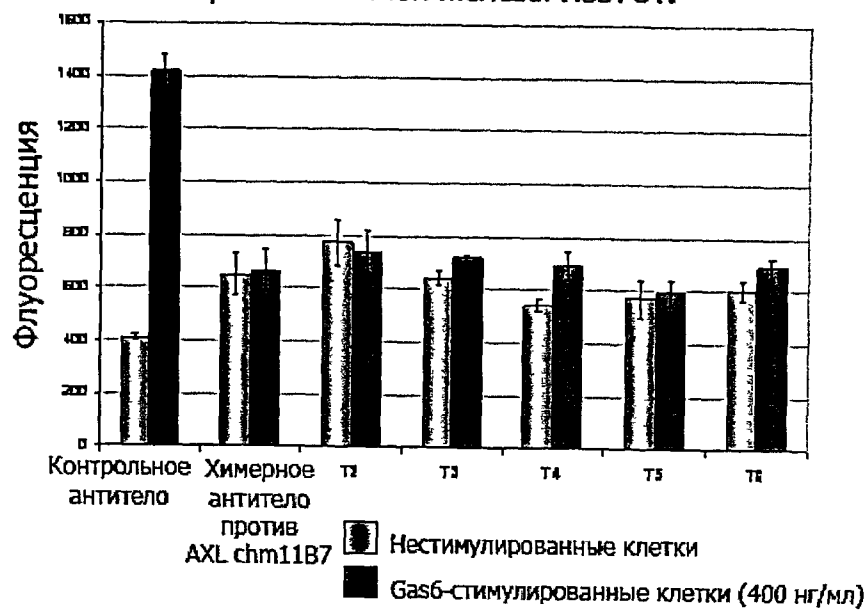
Фиг. 25



Фиг. 26



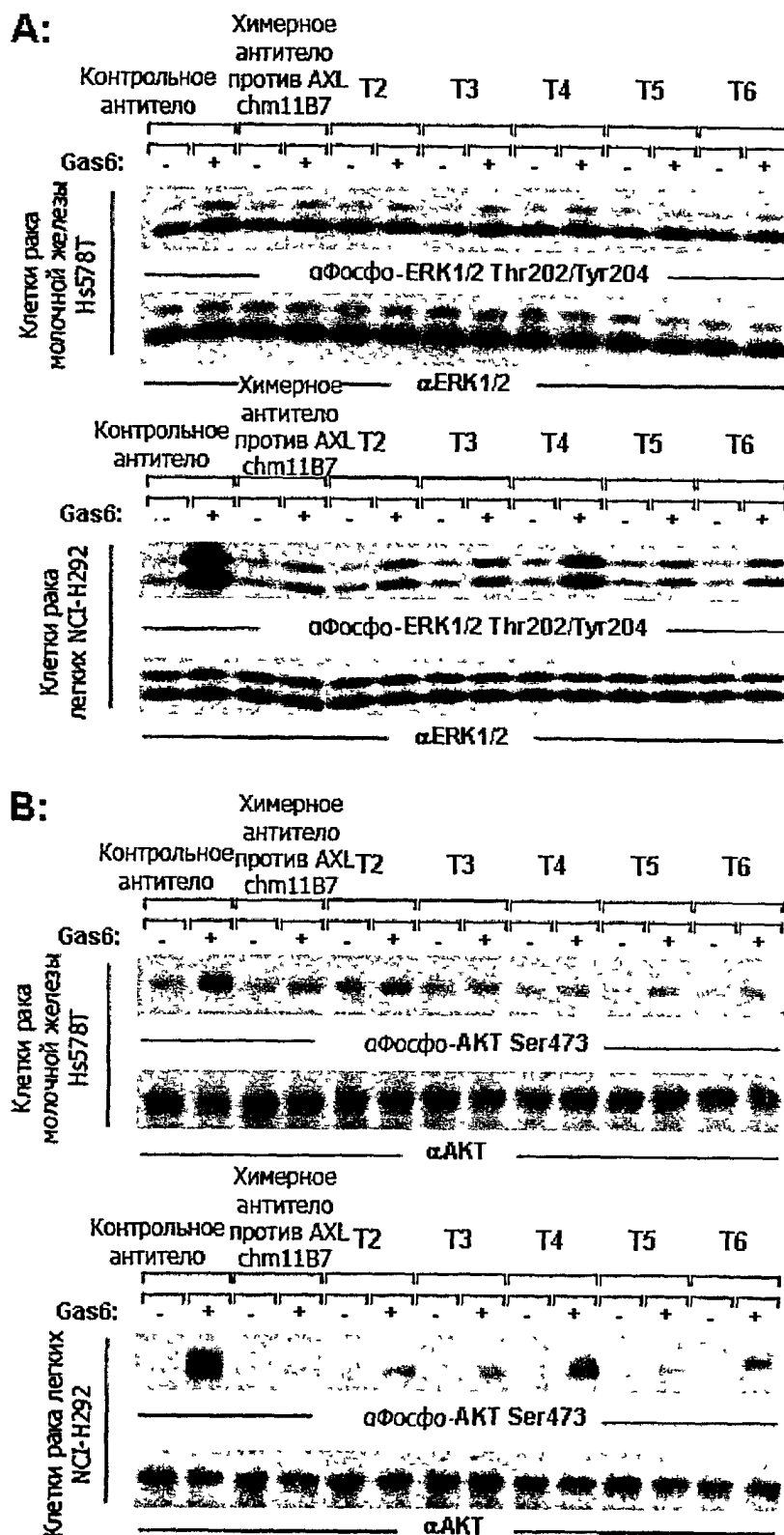
## Клетки рака молочной железы Hs578T:



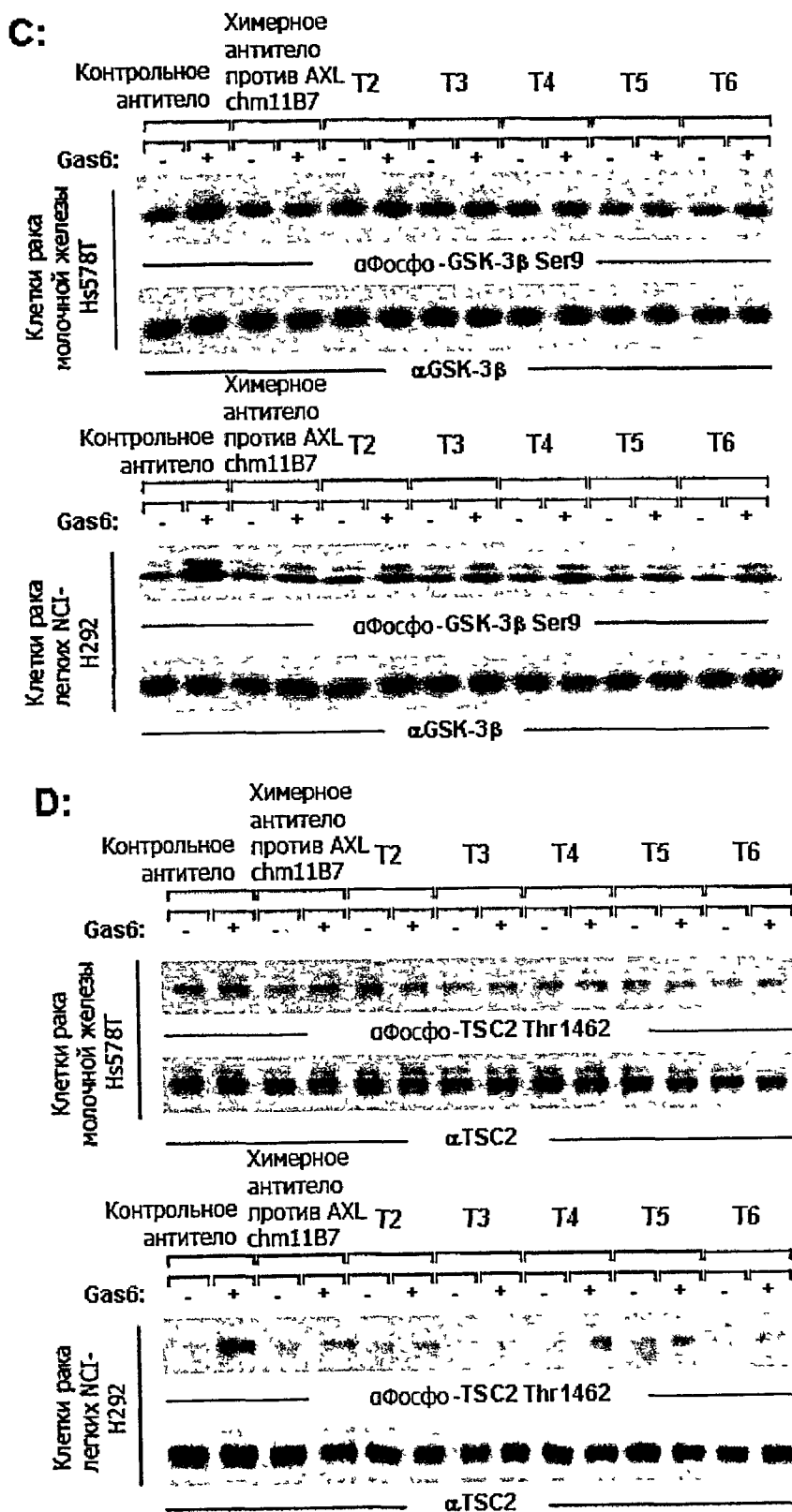
## Клетки рака легких NCI-H292:



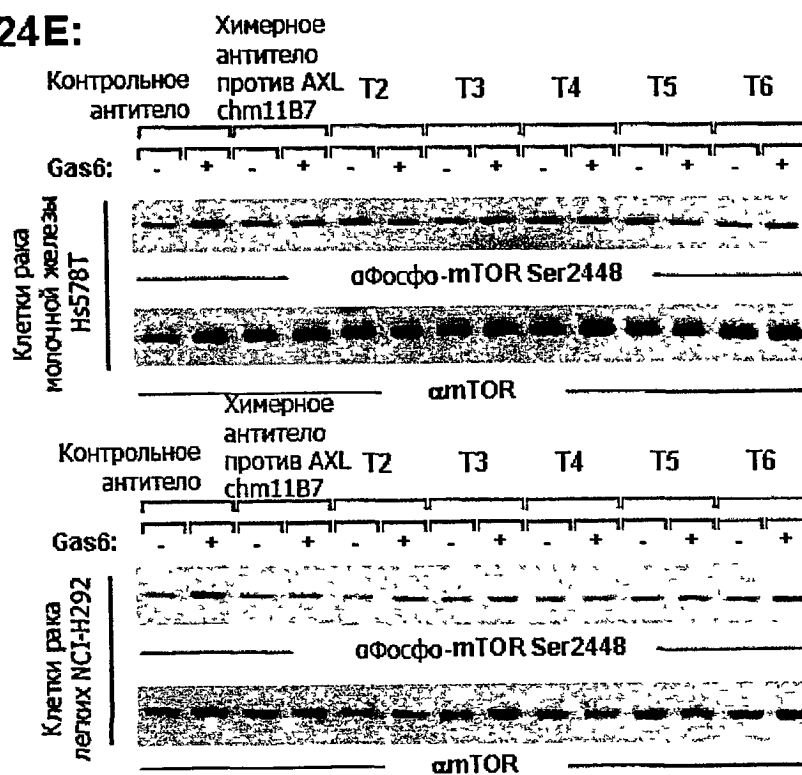
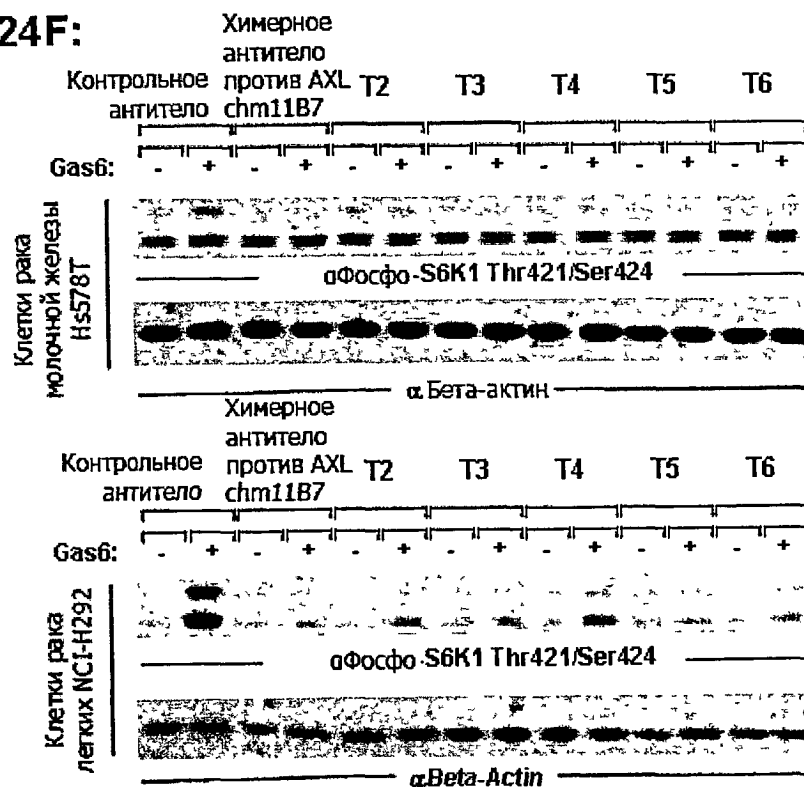
Фиг. 27



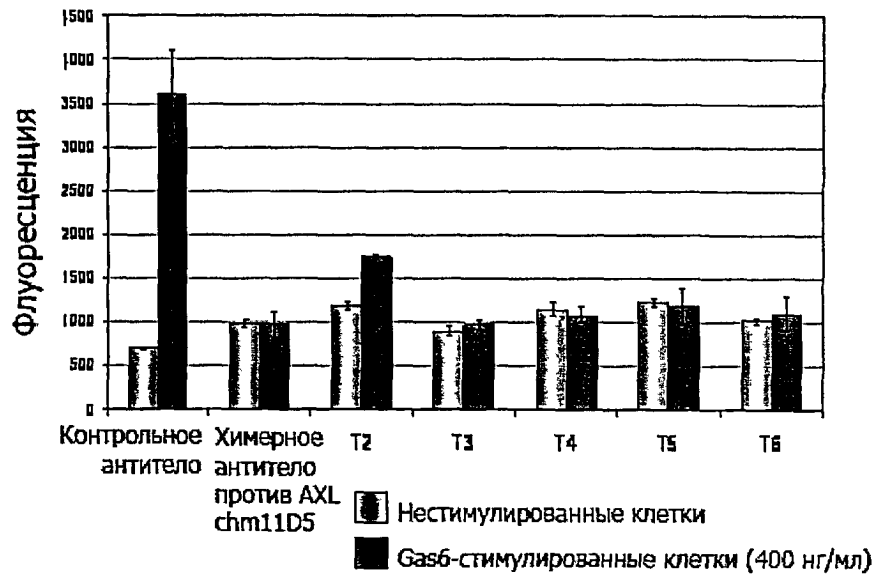
ФИГ. 28



Фиг. 28 (продолжение)

**24E:****24F:****Фиг. 28** (продолжение)

Клетки рака молочной железы Hs578T



ФИГ. 29

Фиг. 30А (Accession No.P\_30530 база данных по белкам NCBI)

MGRVPLAWCLALCGWACMAPRGTAEESEFVGNPGNITGARGLTGTLRCQLQVQGE  
PPEVHWLRDGGQILELADSTQTQVPLGEDEQDDWIVVSQLRITSLQLSDTGQYQCLVFL  
GHQTFVVSQPGYVGLEGLPYFLEEPEDRTVAANTPFNLSCQAQGPPEPVDLLWLQDAVP  
LATAPGHGPPQSLHVPGLNKTSSFSCEAHNAKGVTTSTRATITVLPQQPRNLHLVSRQP  
TELEVAWTPGLSGIYPLTHCTLQAVLSDDGMGIQAGEPDPPEEPLTSQASVPPHQLRLG  
SLHPHTPYHIRVACTSSQGPSSWTHWLPVETPEGVPLGPPENISATRNGSQAFVHWQE  
PRAPLQGTLLGYRLAYQGQDTPEVLMDIGLRQEVTLLELQGDGSVSNLTVCAAYTAA  
GDGPWSLPVPLEAWRPGEAQPVHQLVKEPSTPAFSWPWWYVLLGAVVAAACVLILA  
LFLVHRRKKETRYGEVFPTVERGELVVRYRVRKSYSRRTEATLNSLGISEELKEKLR  
DVMVDRHKVALGKTLGEGEFGAVMEGQLNQDDSKLVAVKTMKIAICTRSELEDFLS  
EAVCMKEFDHPNVMRLIGVCFQGSERESFPAPVVILPFMKHGDLSFLLYSRLGDQPV  
YLPTQMLVKFMADIASGMEYLSTKRFIHRDLAARNCMLNENMSVCVADFGLSKKIY  
NGDYRQGRIAKMPVKWIAIESLADRVYTSKSDVWSFGVTMWEIATRGTPTYPGVE  
NSEIYDYLQGNRLKQPADCLDGLYALMSRCWELNPQDRPSFTELREDLENTLKALPP  
AQEPDEILYVNMDEGGGYPEPPGAAGGADPPTQDPKDCSCLTAAEVHPAGRYVLC  
PSTTPSPAQPADRGSPAAPGQEDGA

Фиг. 30В (SEQ ID NO: 140)

DIQMTQAPSSLPASLGDRVTTICRASQDIGNYLRFQKPGKSPRLMISGATNLAAGV  
PSRFSGSRSGSDYSLTISSEDMADYYCLQSKESPWTFGGGTKLELKR

Фиг. 30С (SEQ ID No: 141)

EVQLQESGPGLVKPSQSLTCSVTGYSITSNYWGWIRKFPDGKMEWMGYITYSGSTS  
YNPSLKSRLSITRDTSKNQFFLQLNSVTSEDATYYCAITTFYYWGQGVMVTVSS

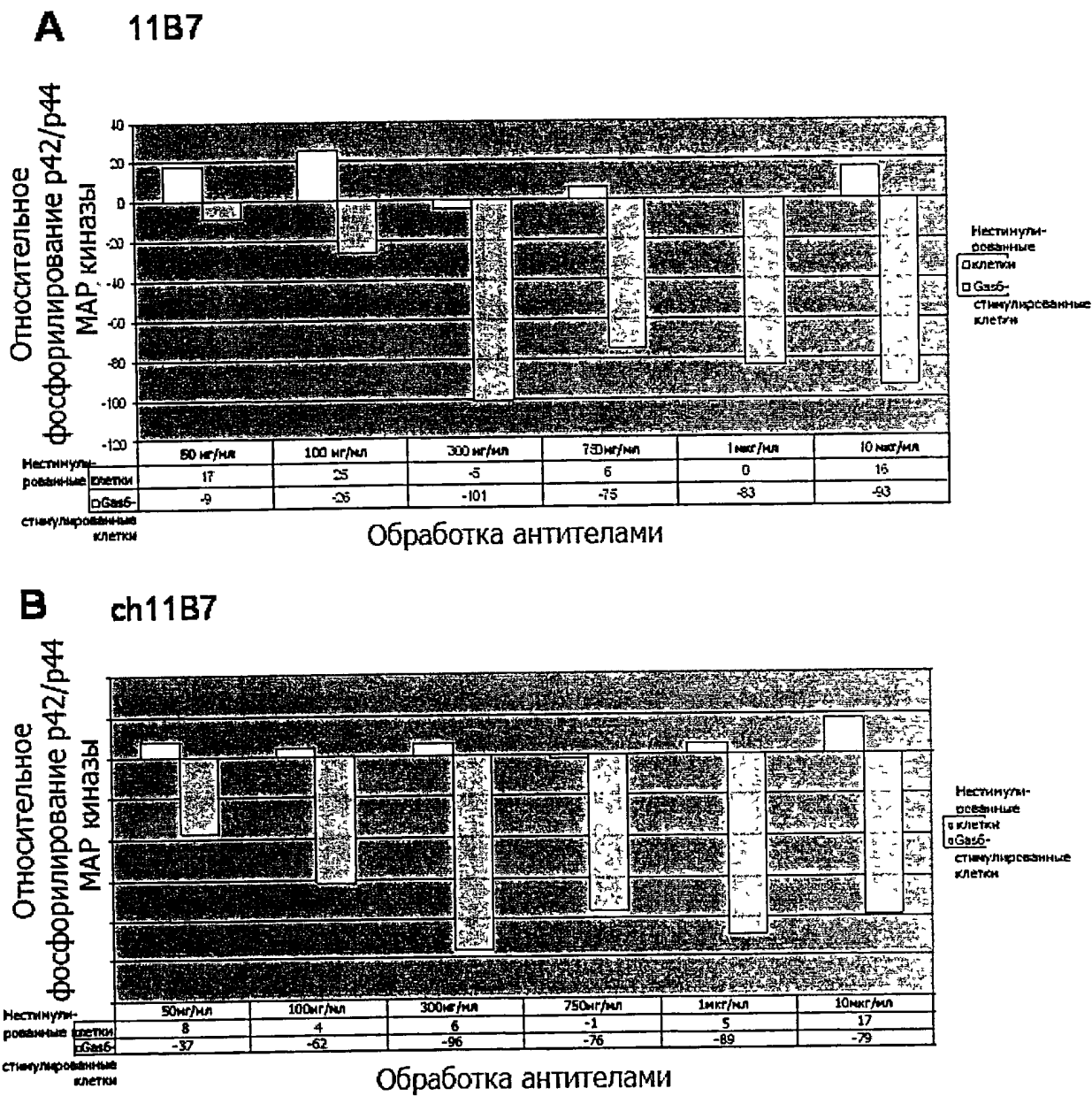
Фиг. 30D (SEQ ID NO: 142)

DIQMTQSPSSMSTSLGDRVTTICRASQDIGNYLSWFQKVGKSPRRMIYGAIKLAVGV  
PSRFSGSRSGSDYSLTISSEDMADYYCLQYIQFPLTFGSGTKLELKR

Фиг. 30Е (SEQ ID NO: 143)

EVQLQESGPGLVKPSQSLTCSVTGYSITSNYWGWIRKFPGNKMEWIGHITNSGNTT  
YNPSLKSRLSISRDTSRNQFFLQLNSVTTEDATYYCAKGAFDYWGQGVMVTVSS

Фиг. 30



Фиг. 31

**h#11B7-T15L** (Такоже показано на Фигуре 3)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWFQQKPGKAPKLLI  
SGATNLAAGVPSRFSGSGSGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPW  
TFGQGTKLEIKRT

**h#11B7-T18L** (Такоже показано на Фигуре 3)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNYLRWFQQKPGKAPKLLI  
SGATNLAAGVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCLQSKESPW  
TFGQGTKLEIKRT

Фиг. 32A

**h#11B7-T11H** (Такоже показано на Фигуре 5)

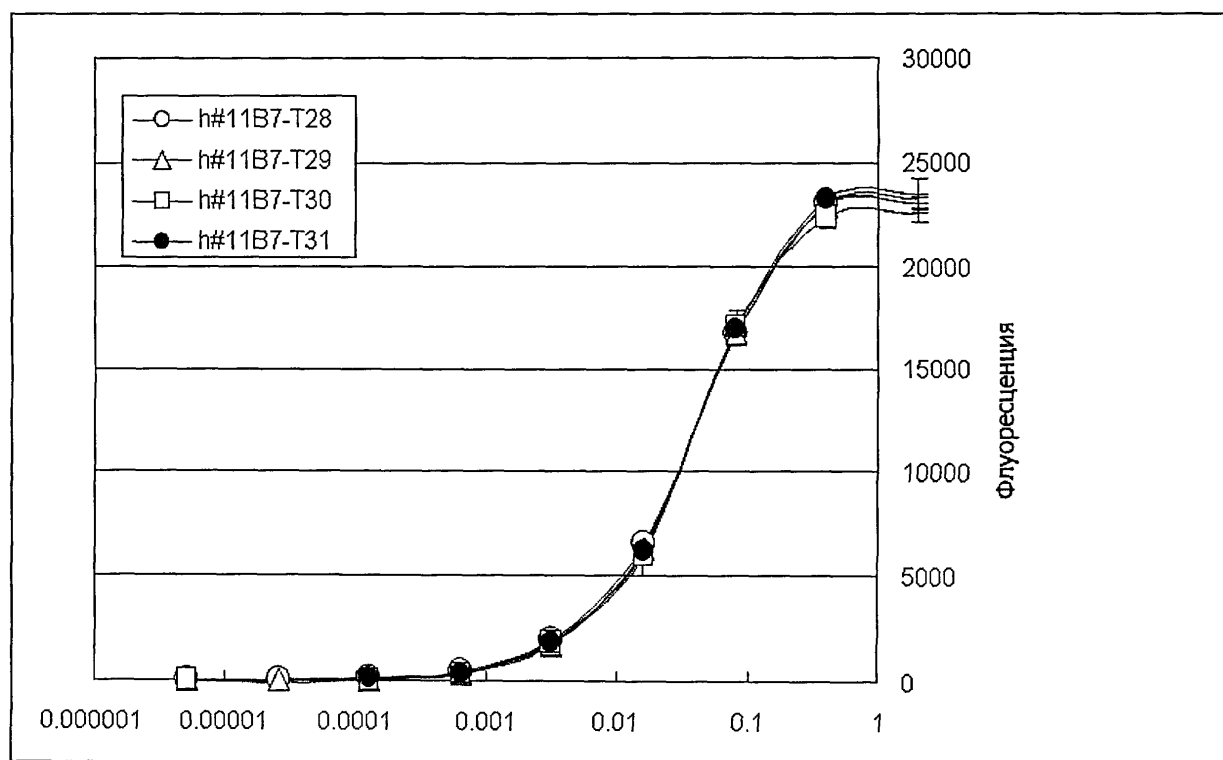
QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWM  
GYITYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA  
ITTFYYWGQGTTVTVSS

**h#11B7-T12H** (Такоже показано на Фигуре 5)

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCTVSGYSITSNYWGWIRQPPGKGLEWI  
GYITYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA  
ITTFYYWGQGTTVTVSS

Фиг. 32B



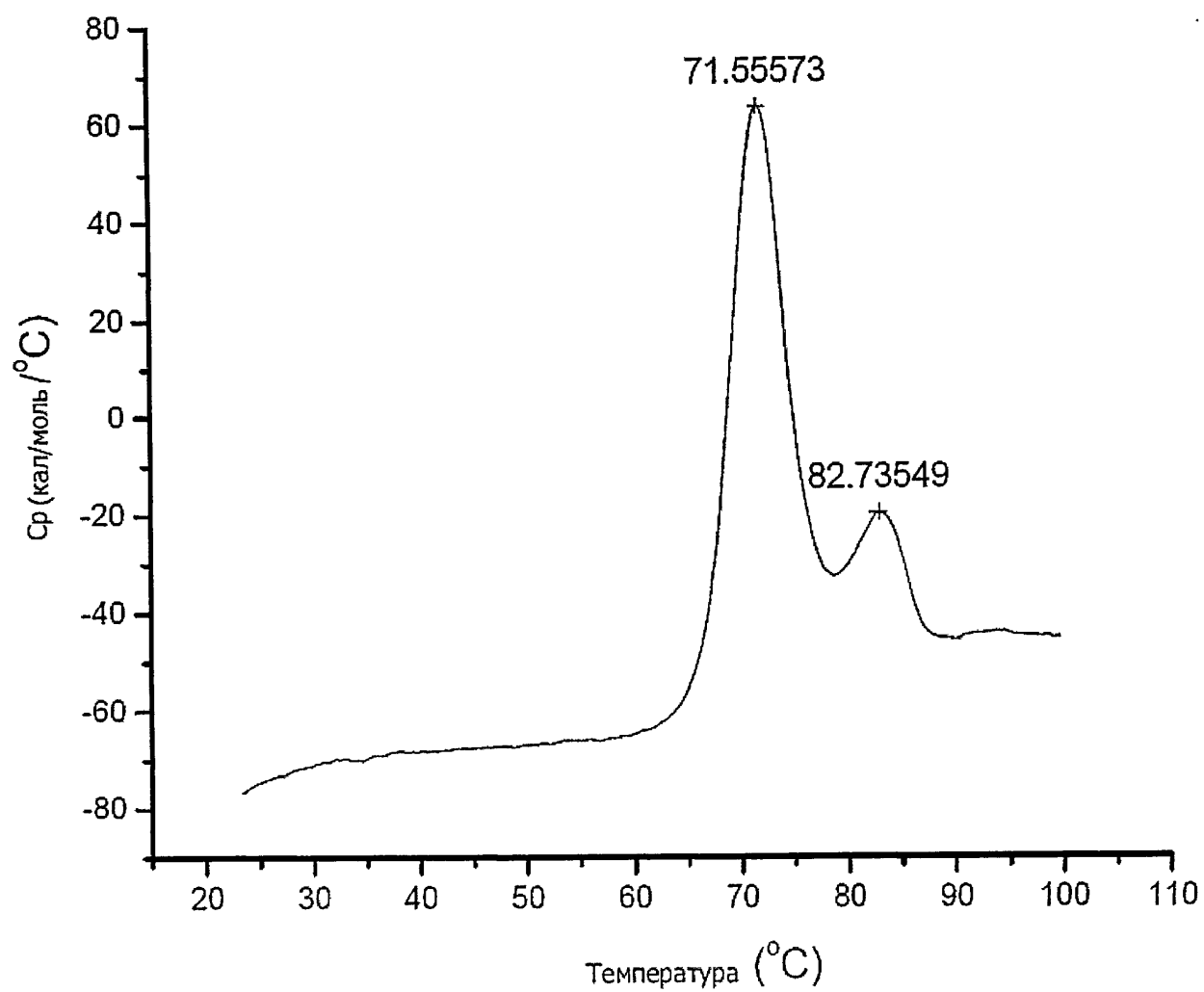


мкг/мл

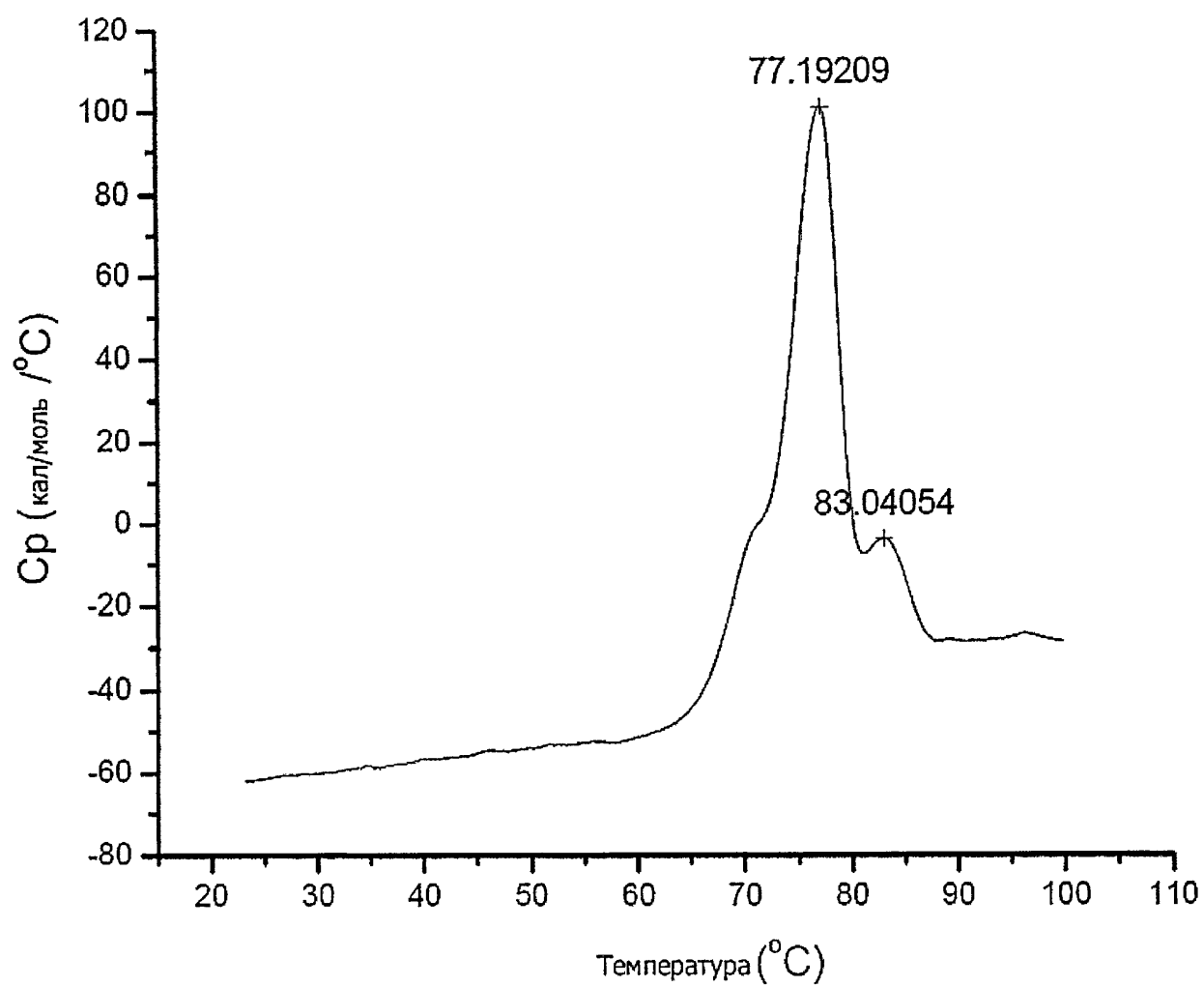
Фиг. 33

|            | Коэффициент поглощения<br>(поглощение при 280 нм/мг/мл) | Концентрация белка (мг/мл) |
|------------|---|----------------------------|
| h#11B7-T28 | 1.610   | 0.9                        |
| h#11B7-T29 | 1.590   | 2.5                        |
| h#11B7-T30 | 1.611   | 0.5                        |
| h#11B7-T31 | 1.590   | 1.3                        |

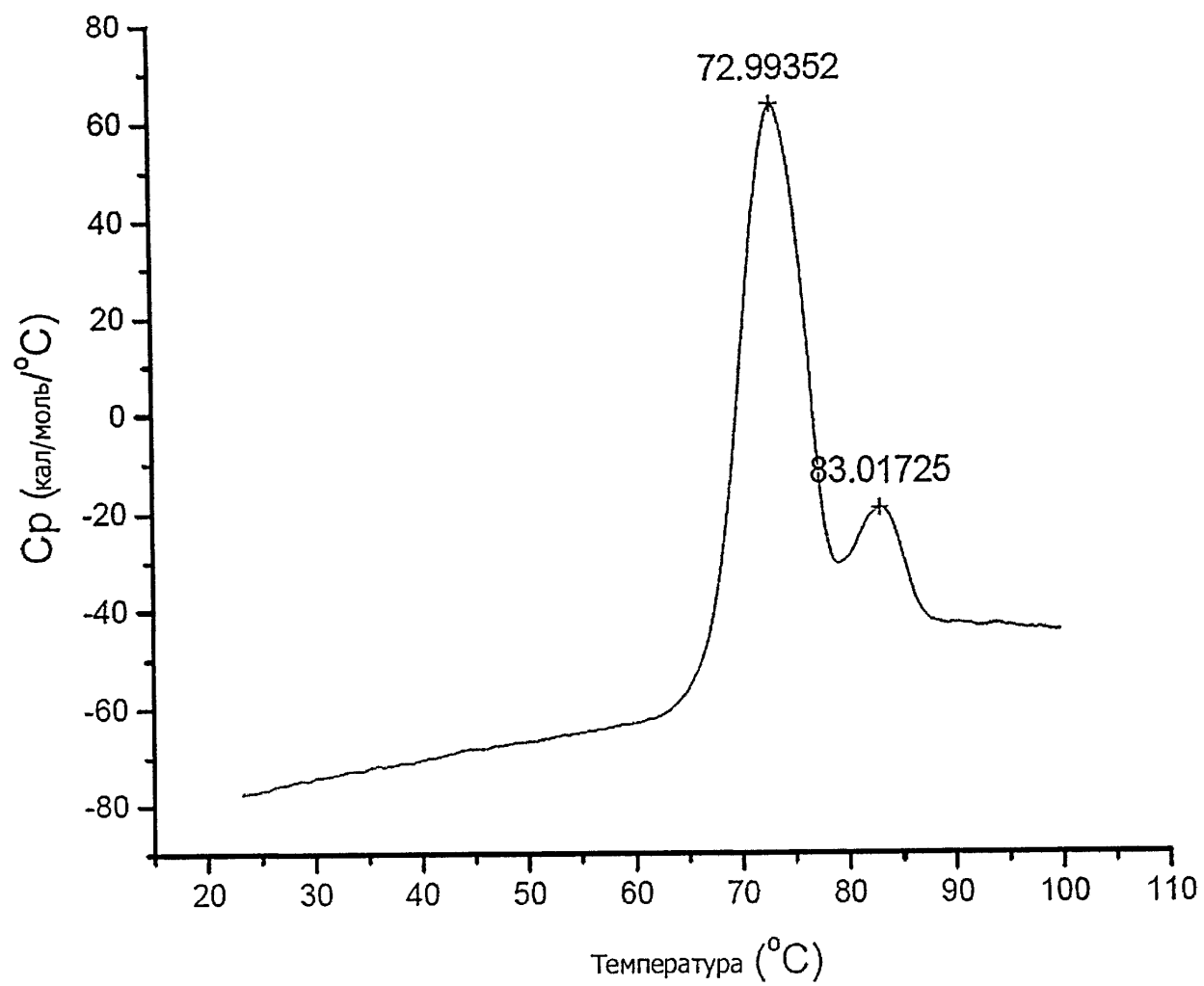
Фиг. 34



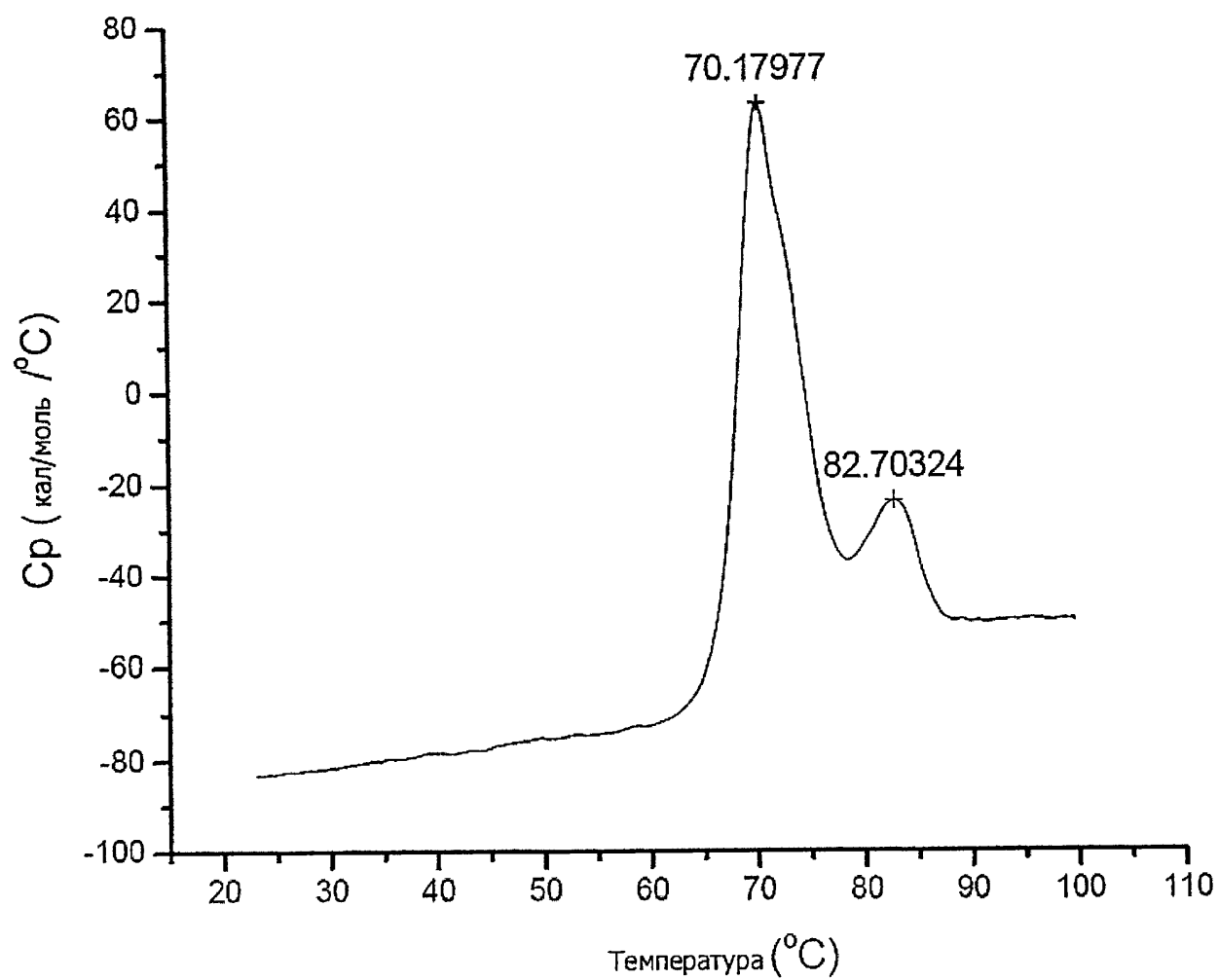
Фиг. 35(1). h#11B7-T1



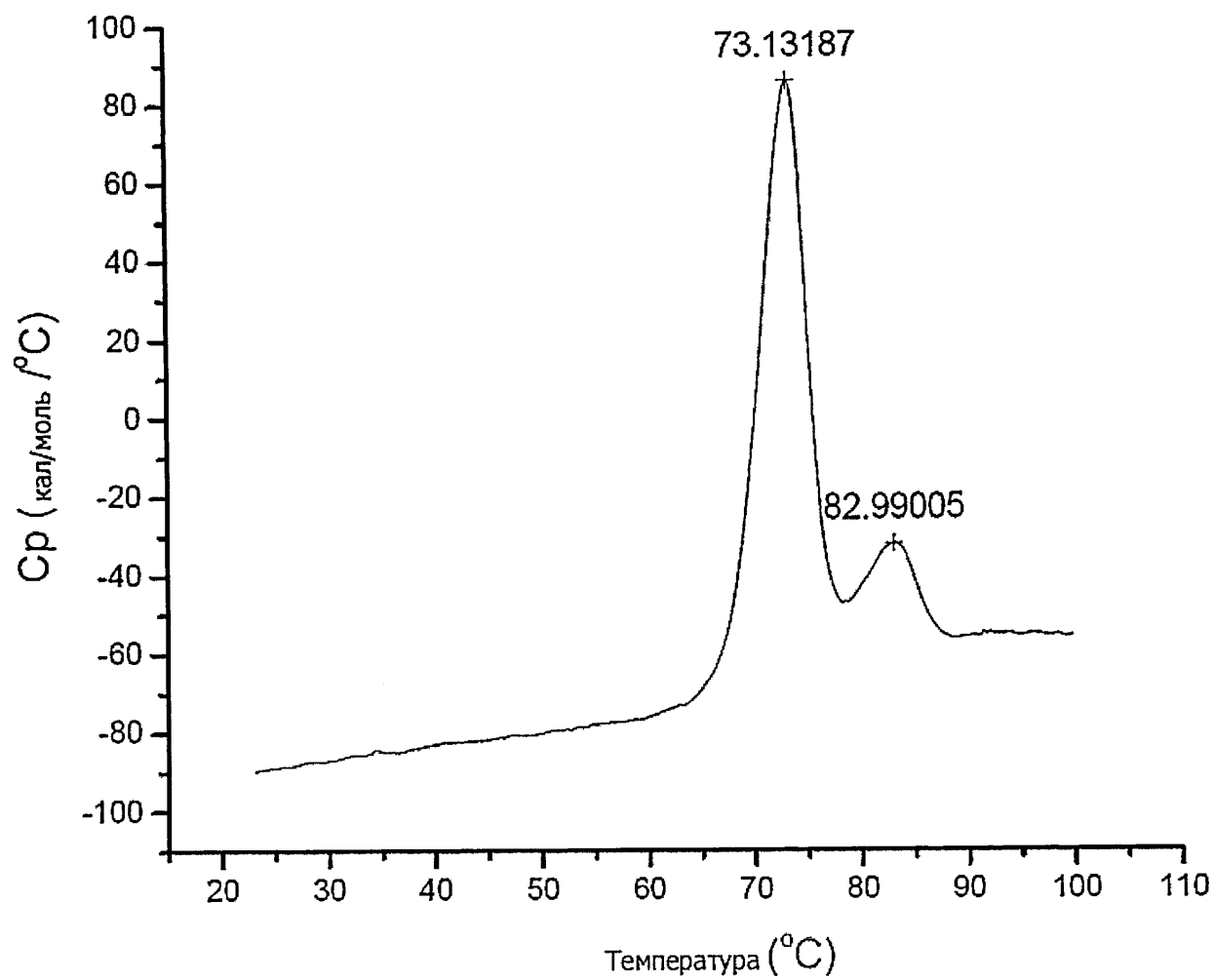
Фиг. 35(2). h#11B7-T2



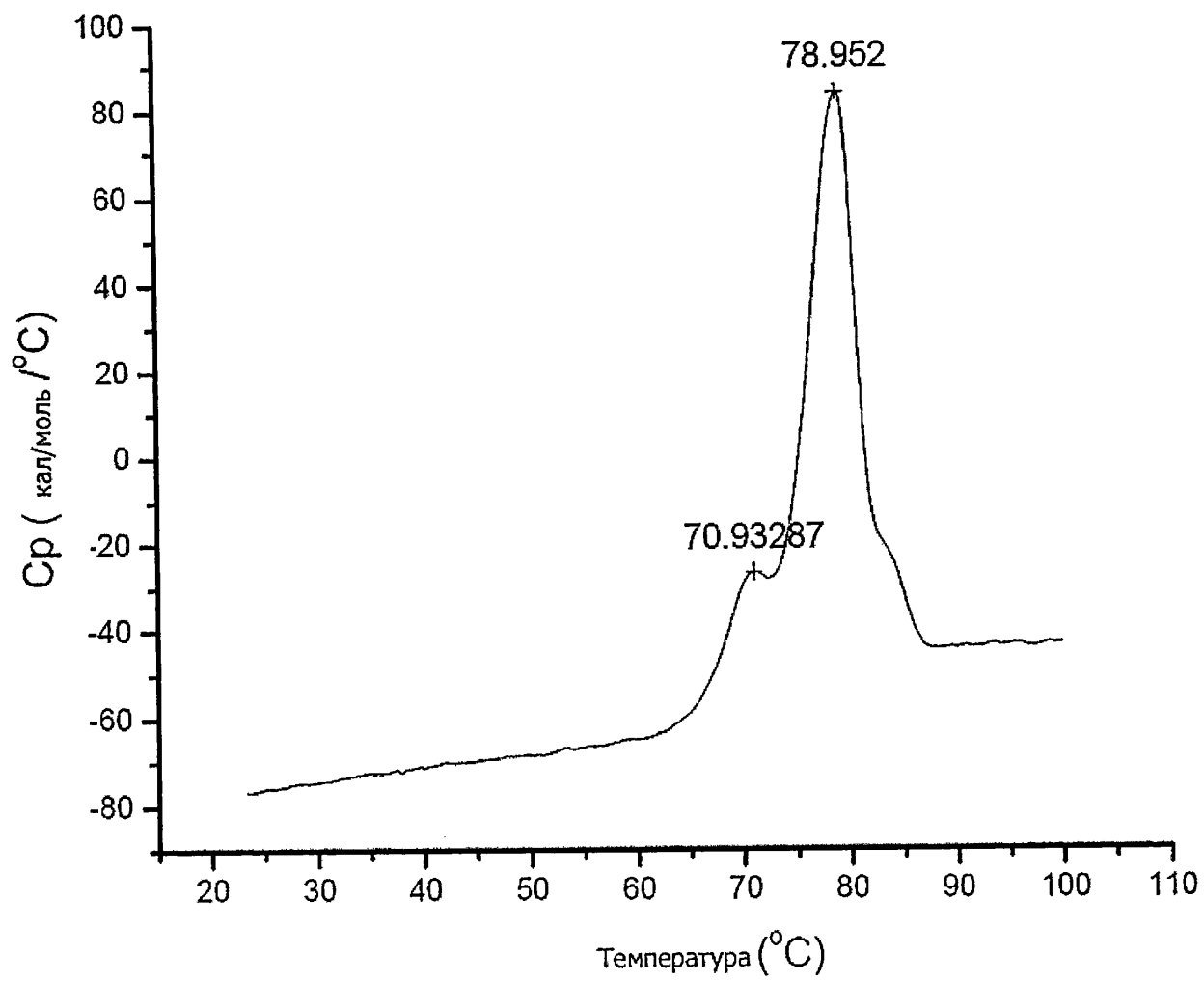
Фиг. 35(з). h#11B7-T3



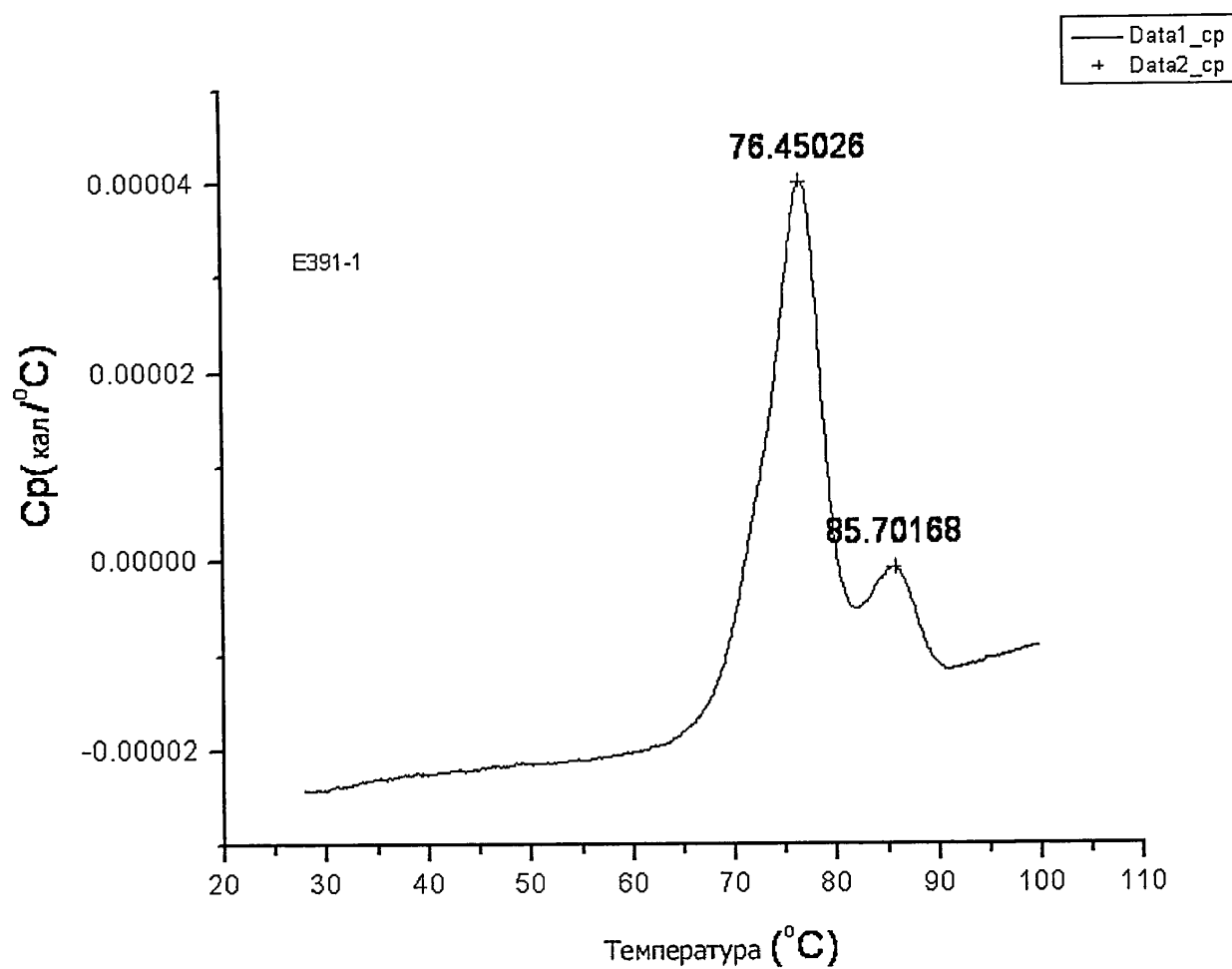
Фиг. 35 (4).h#11B7-T4



Фиг. 35(5). h#11B7-T5

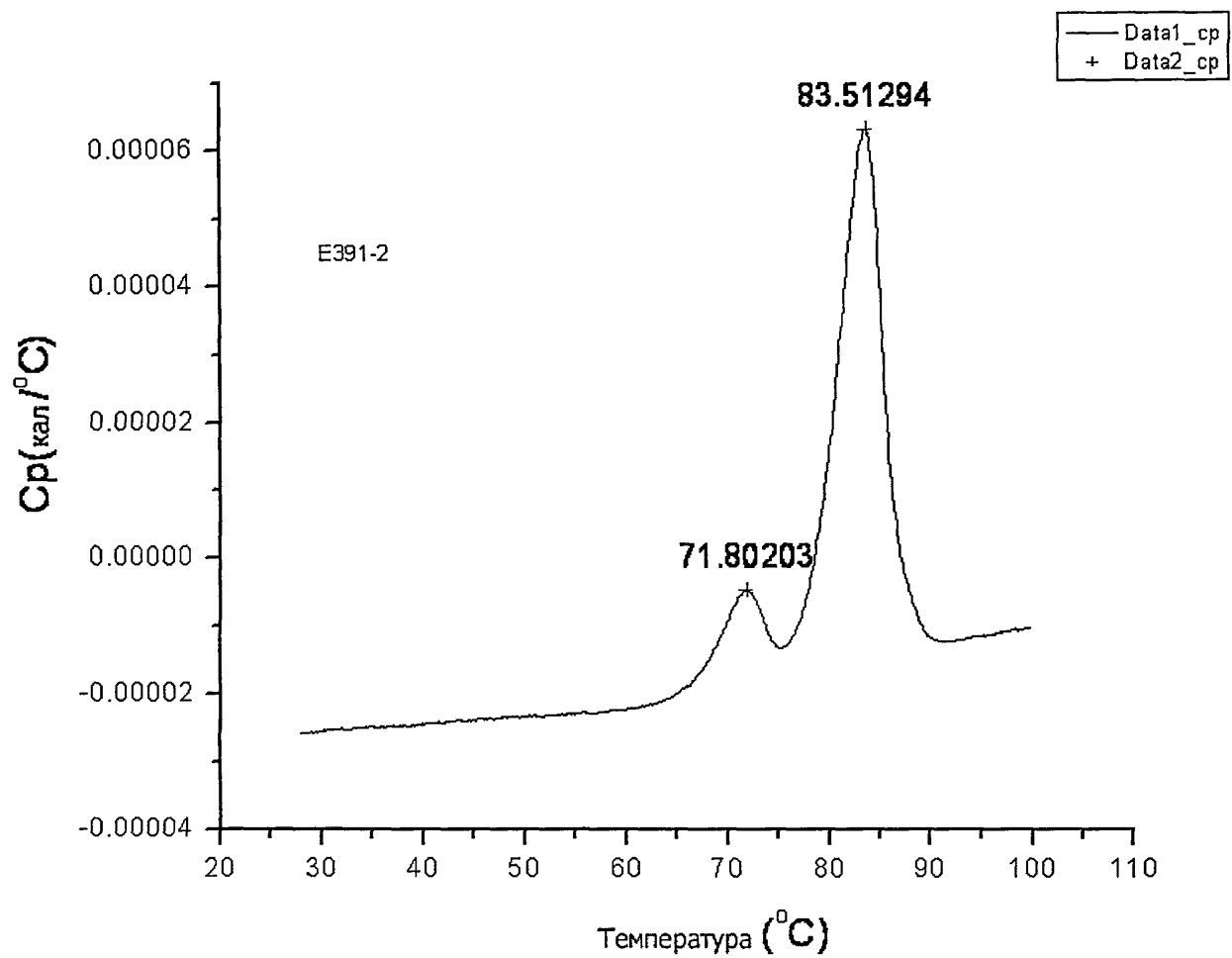


Фиг. 35(6). h#11B7-T6

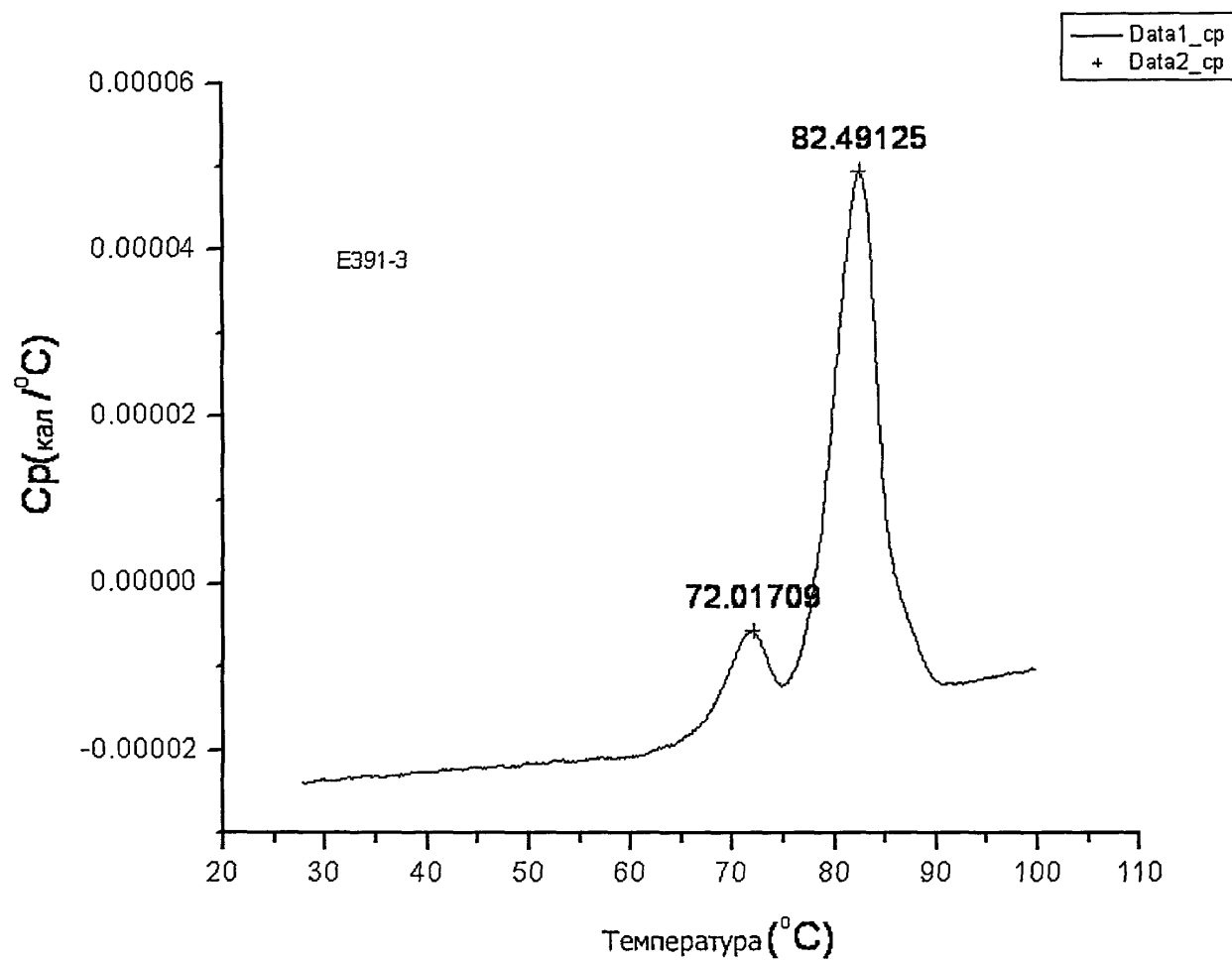


Фиг. 35(7). h#11B7-T7

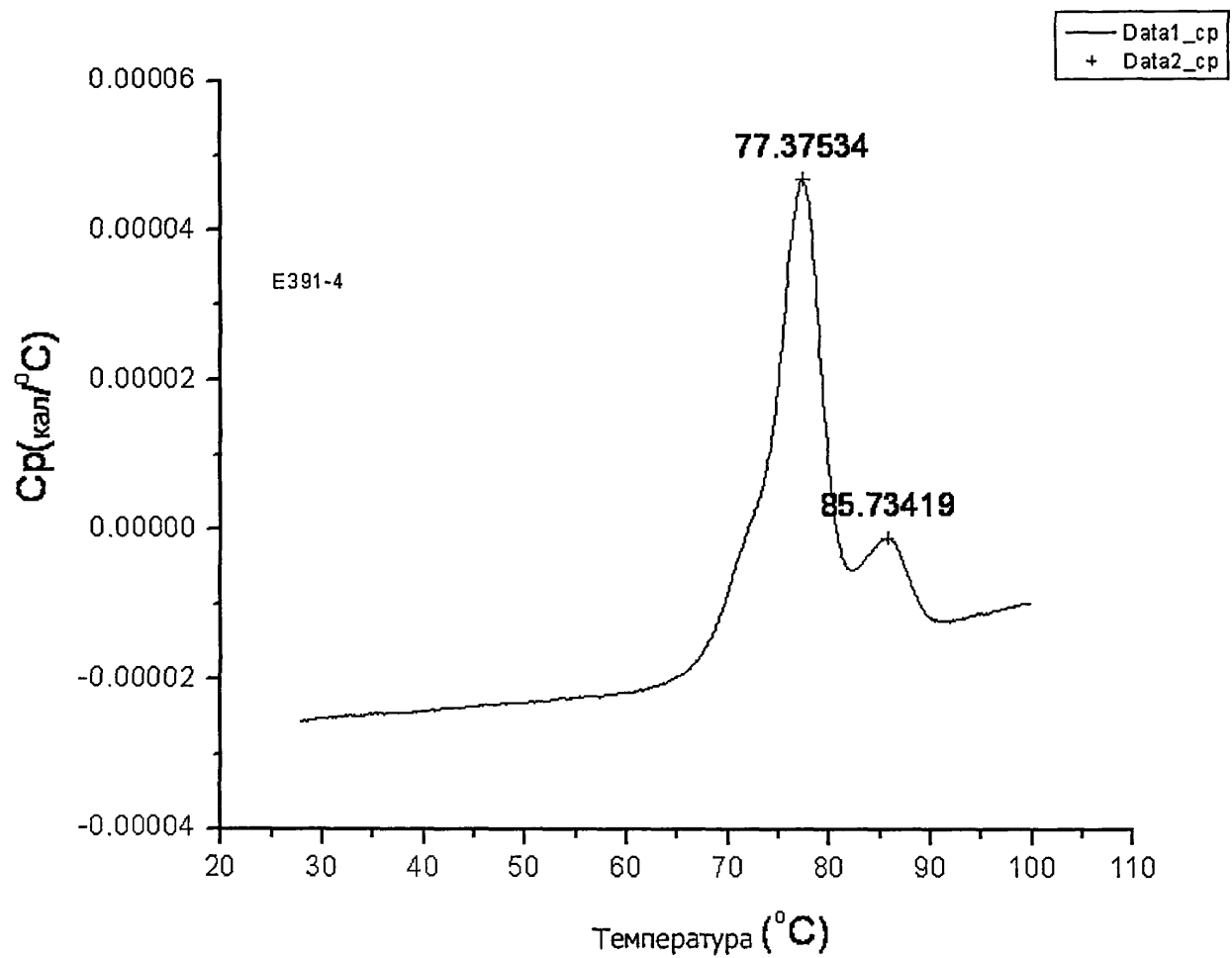




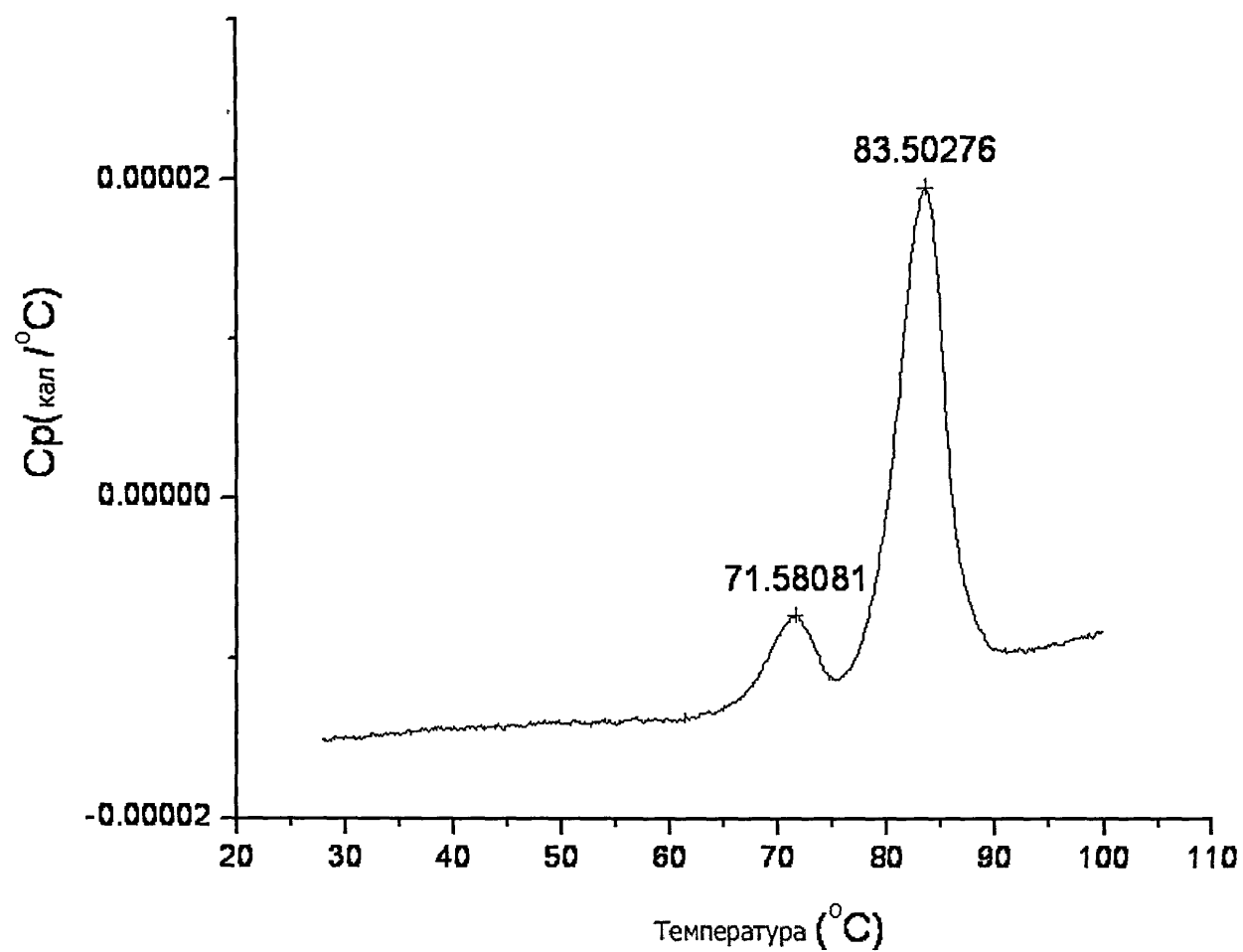
Фиг. 35(8). h#11B7-T8



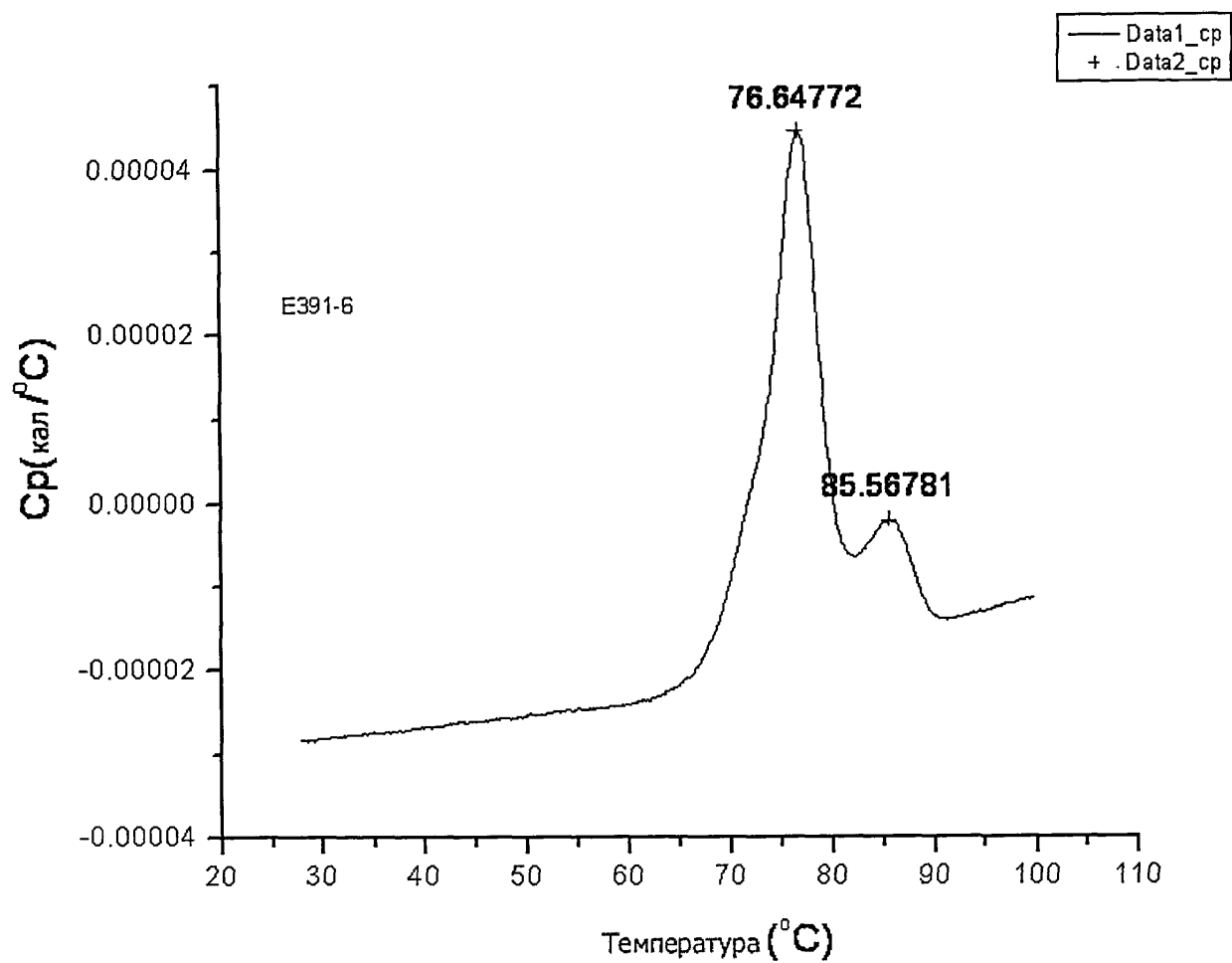
Фиг. 35(9). h#11B7-T9



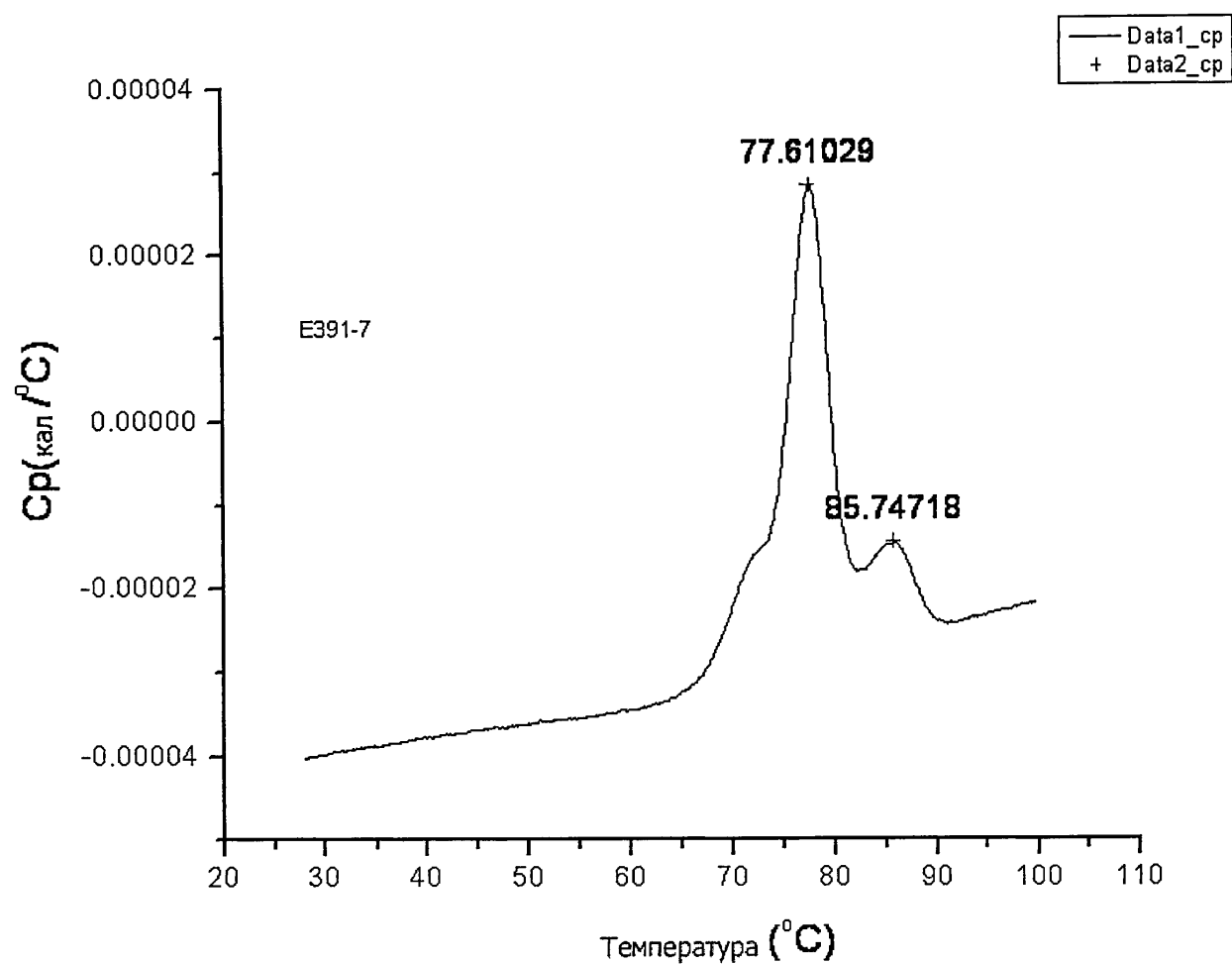
Фиг. 35(10). h#11B7-T10



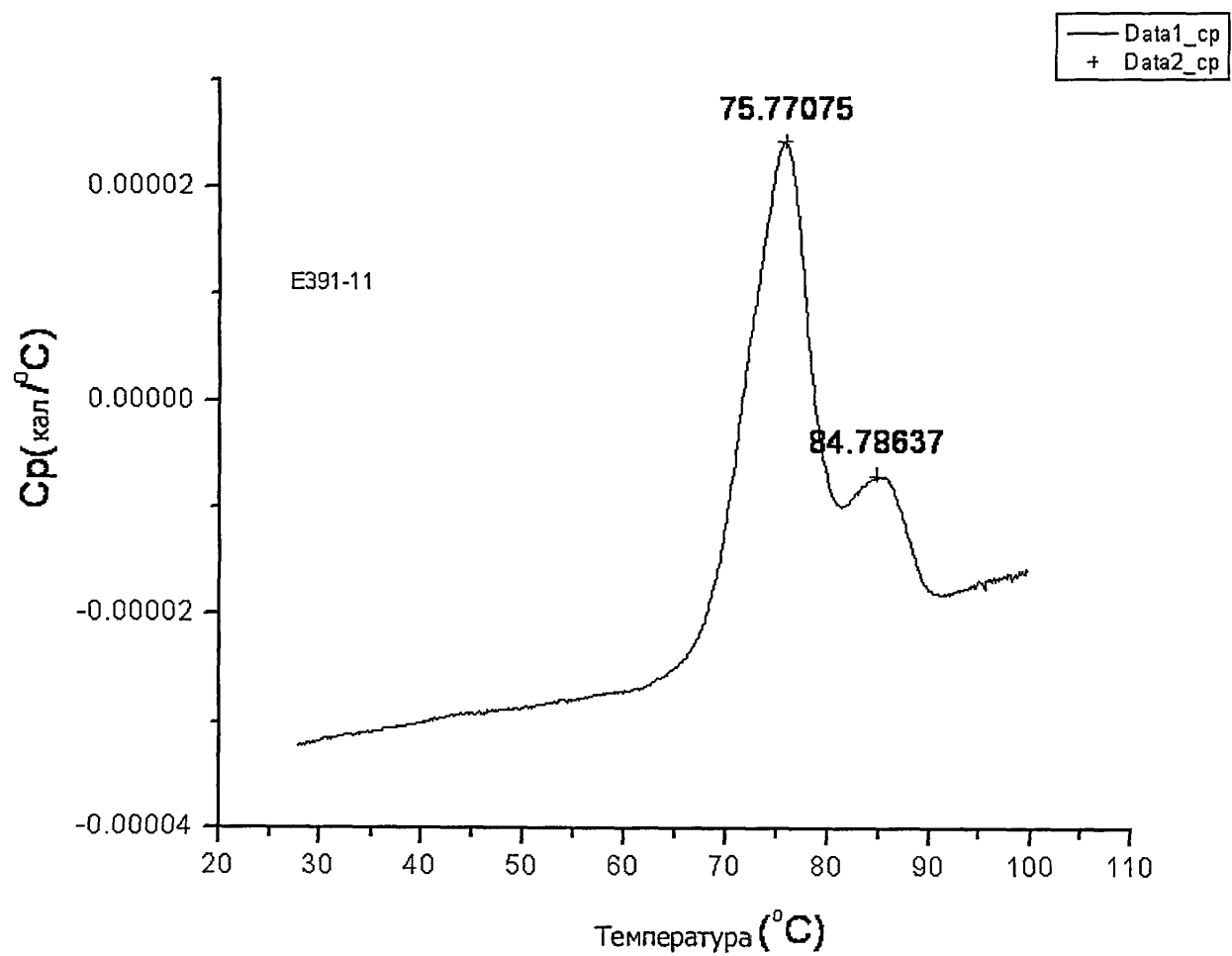
Фиг. 35(11). h#11B7-T11



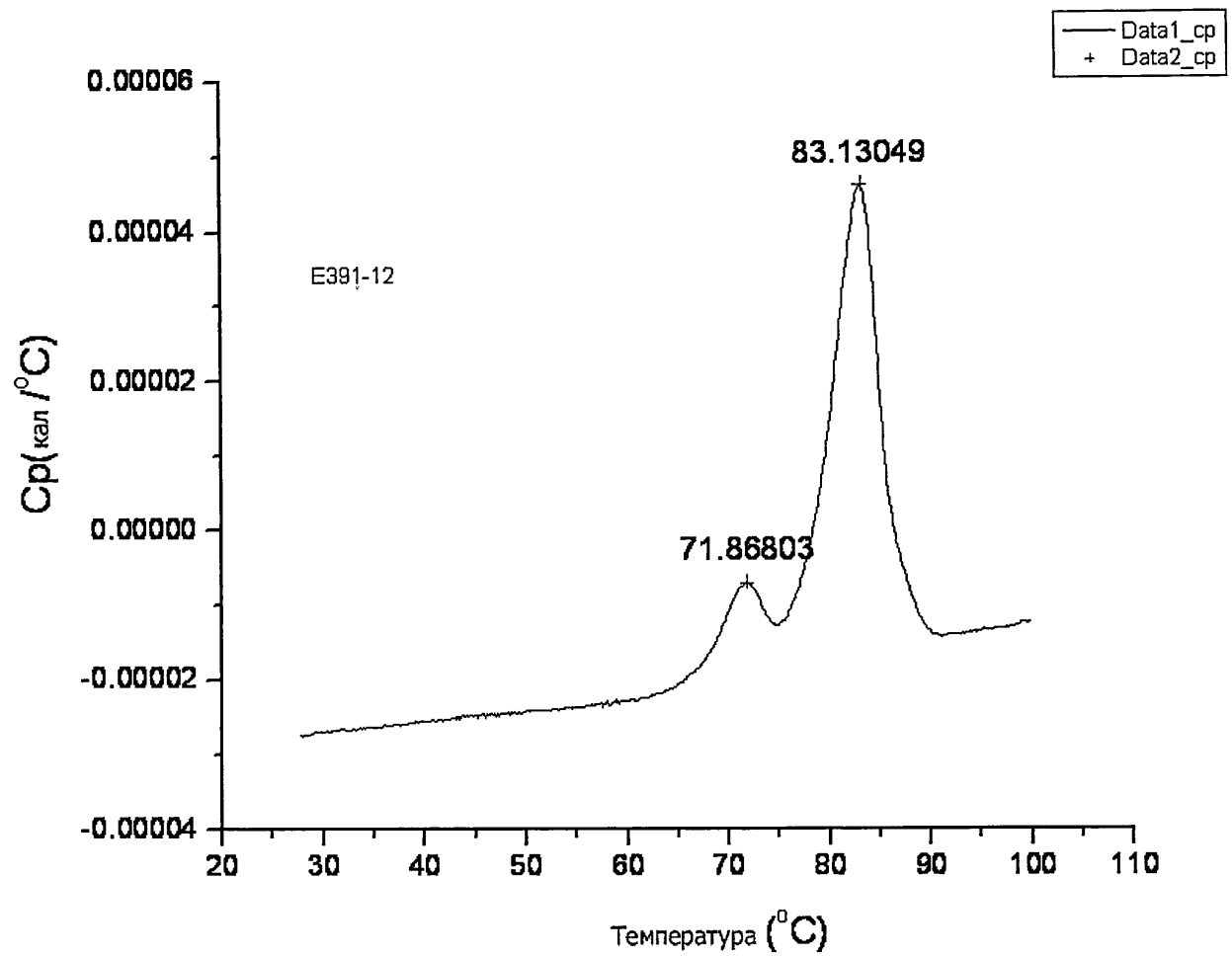
Фиг. 35(12). h#11B7-T12



Фиг. 35(13). h#11b7-T13

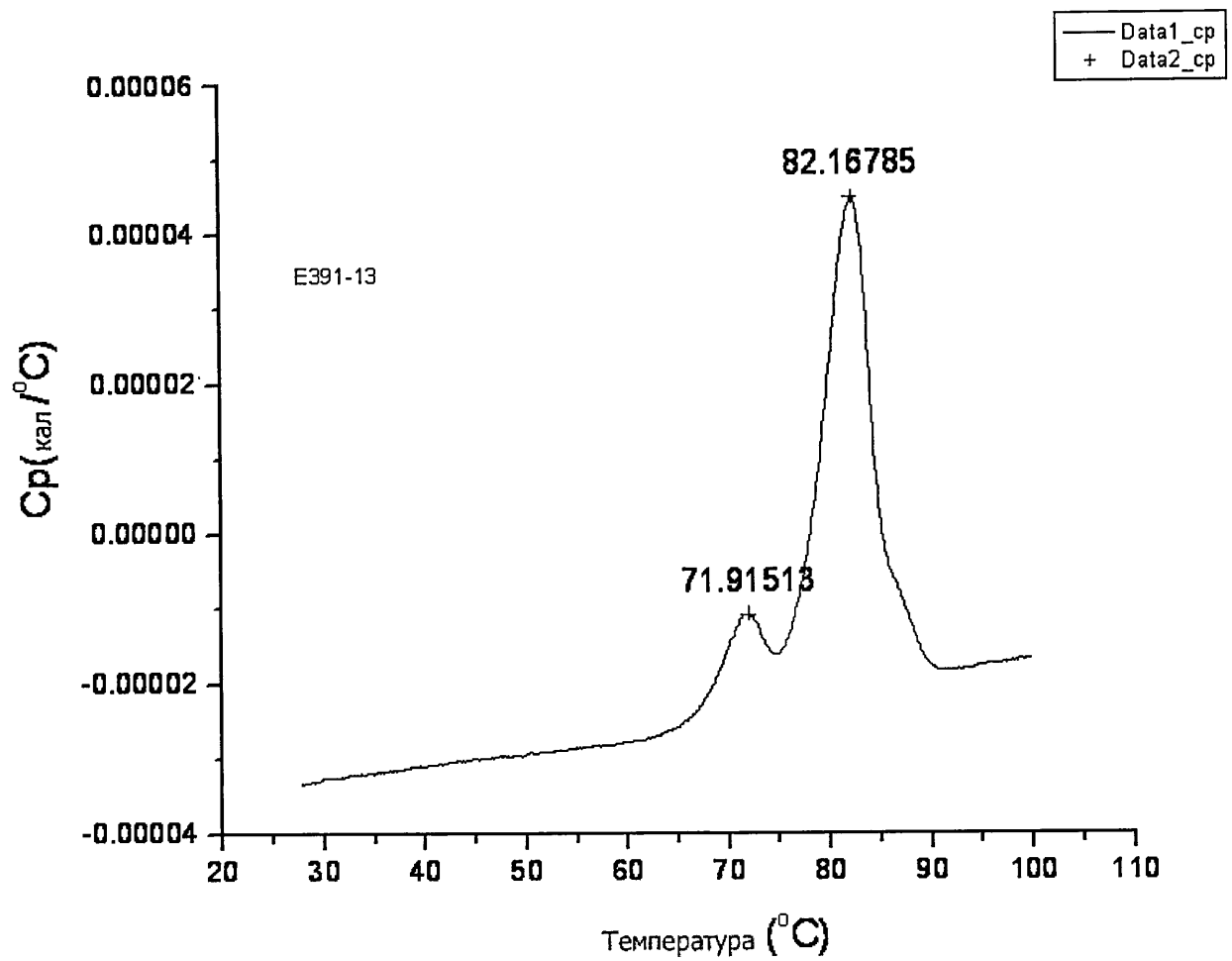


Фиг. 35(14). h#11B7-T14

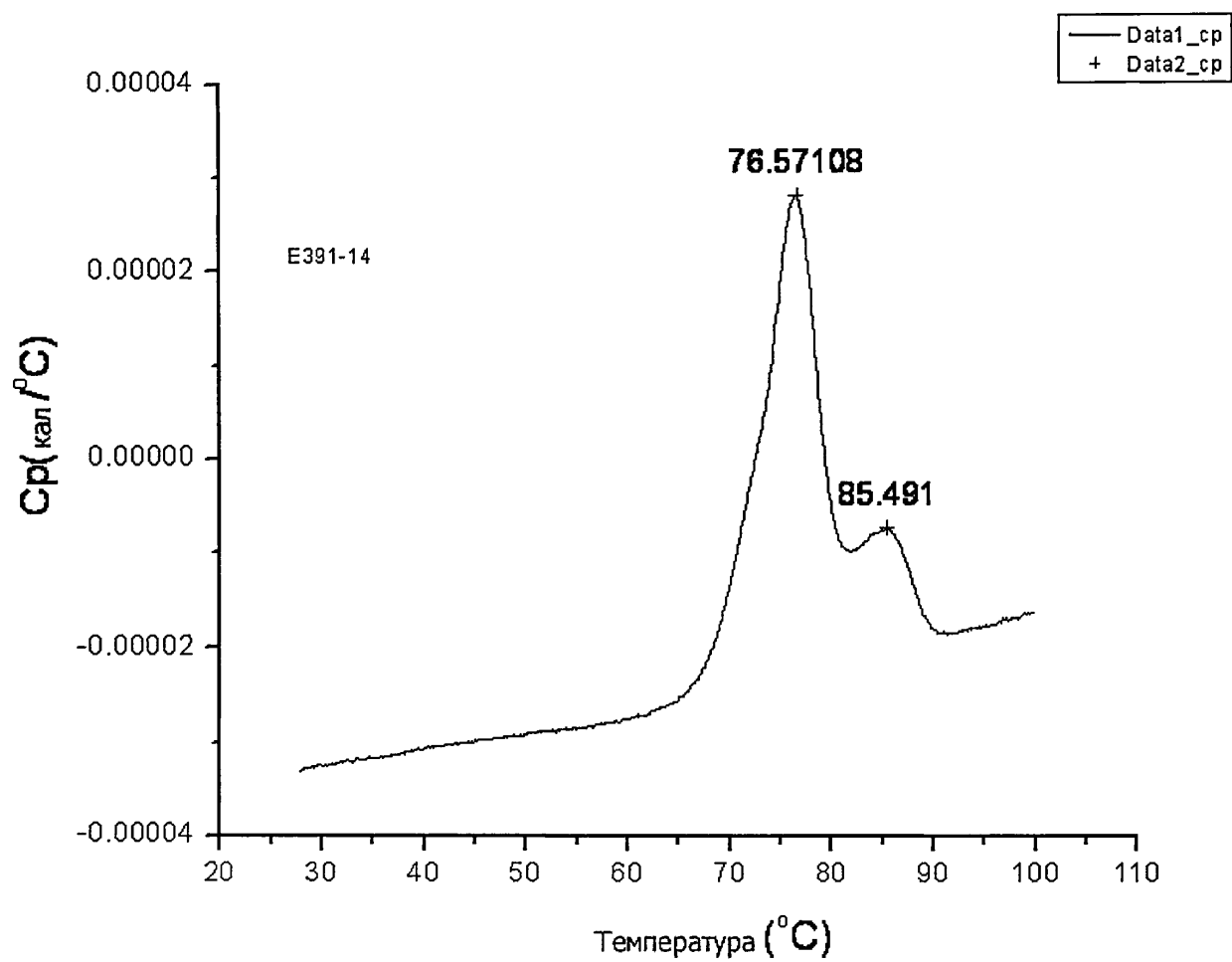


Фиг. 35(15). h#11B7-T15

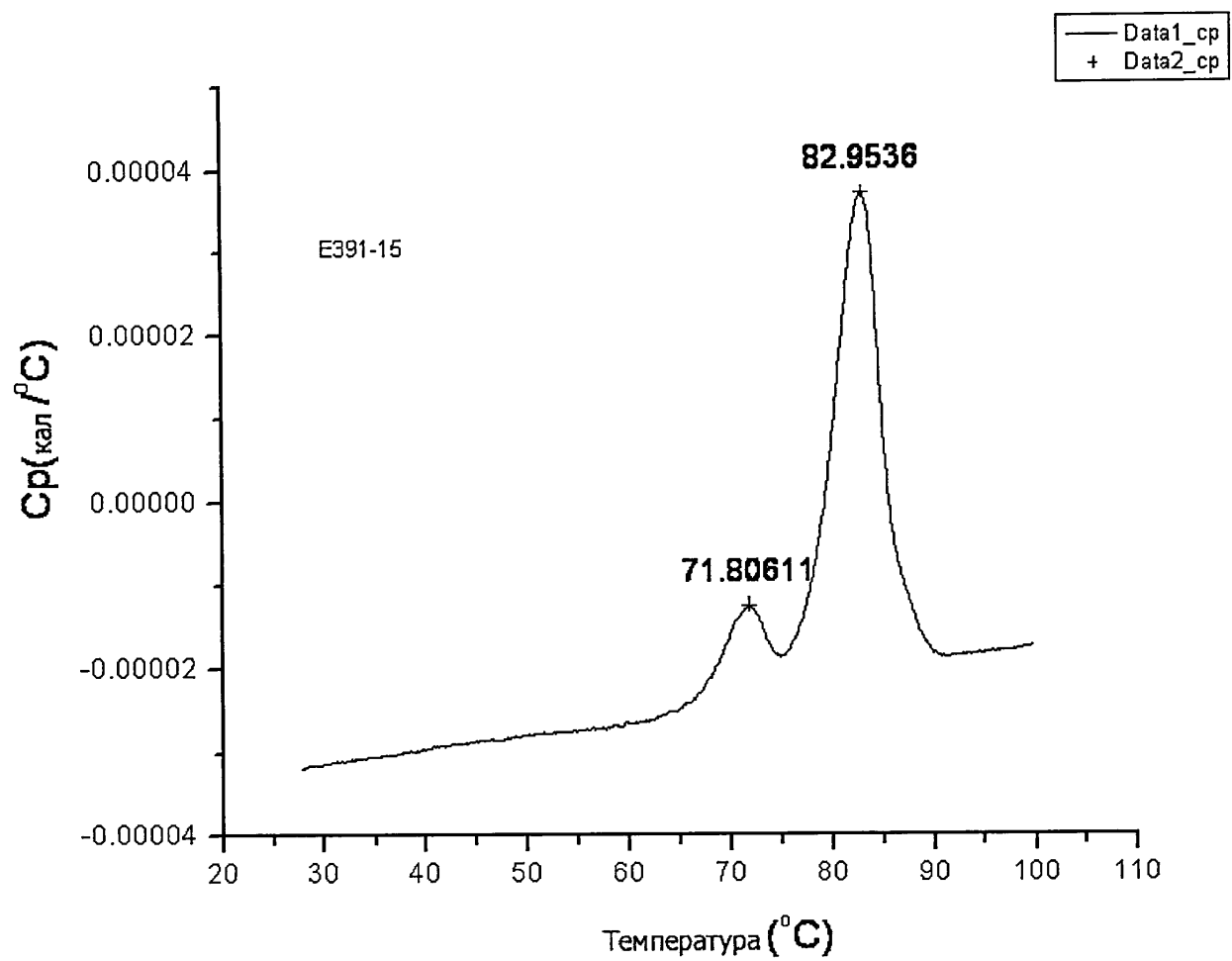




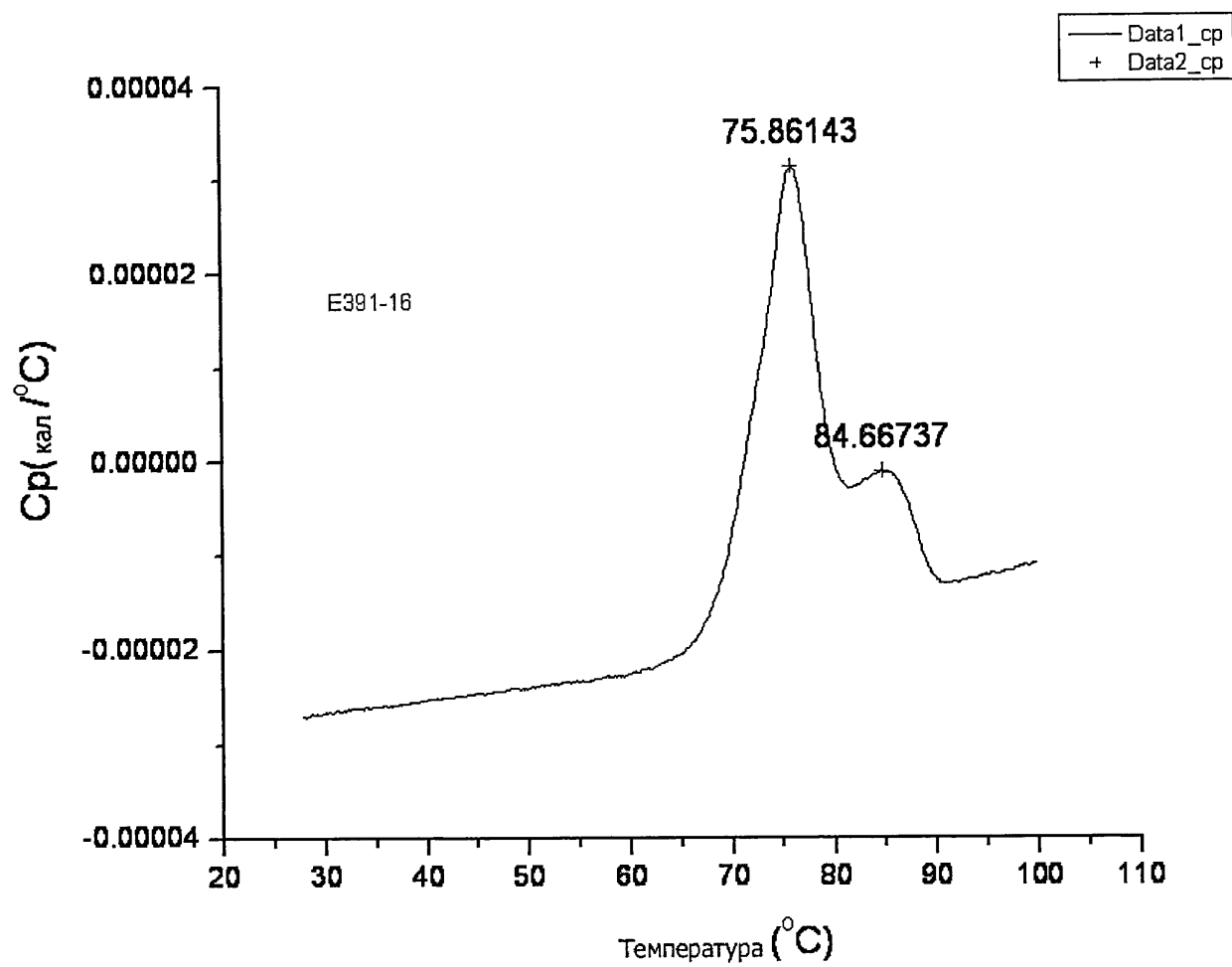
Фиг. 35(16). h#11B7-T16)



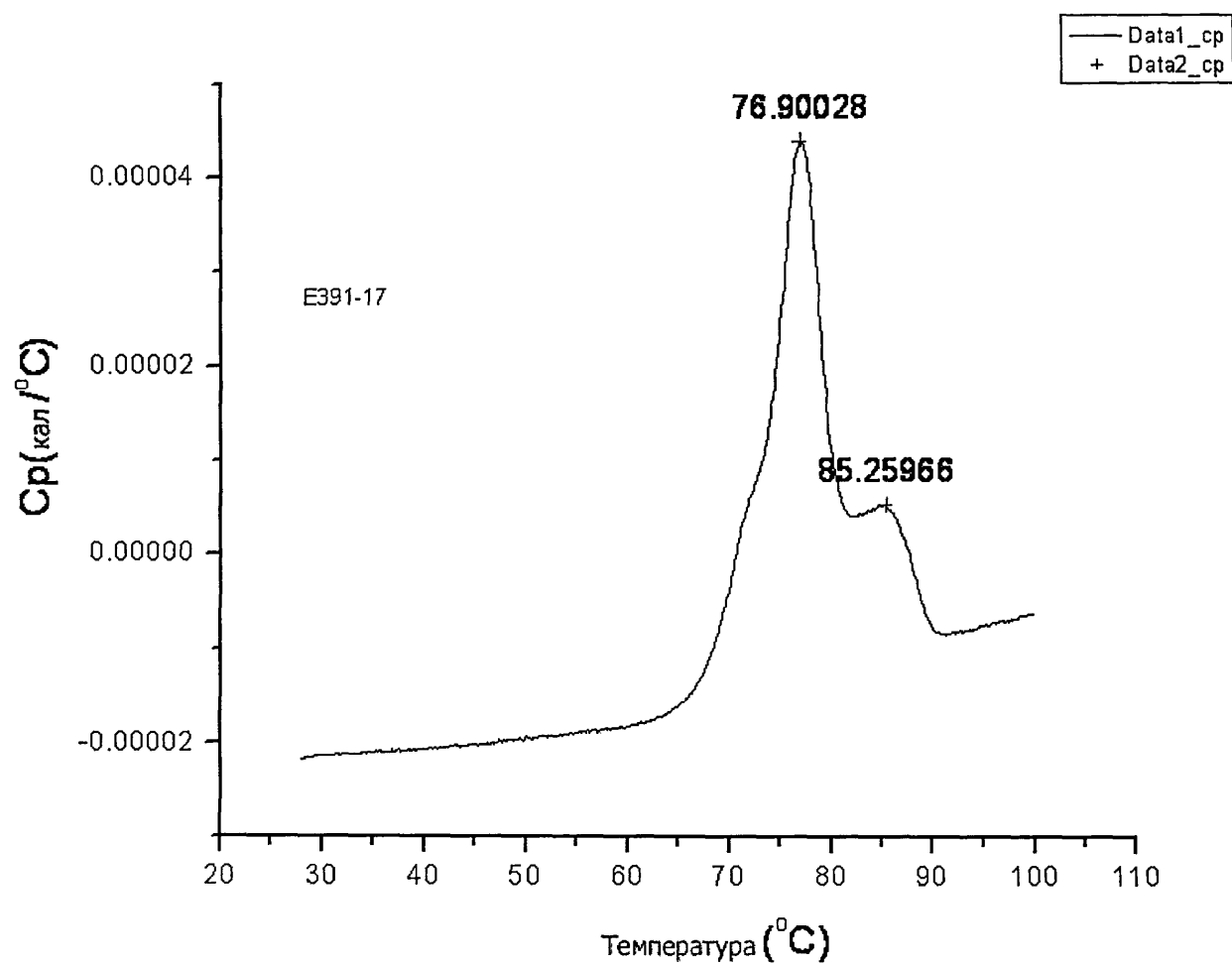
Фиг. 35(17). h#11B7-T17



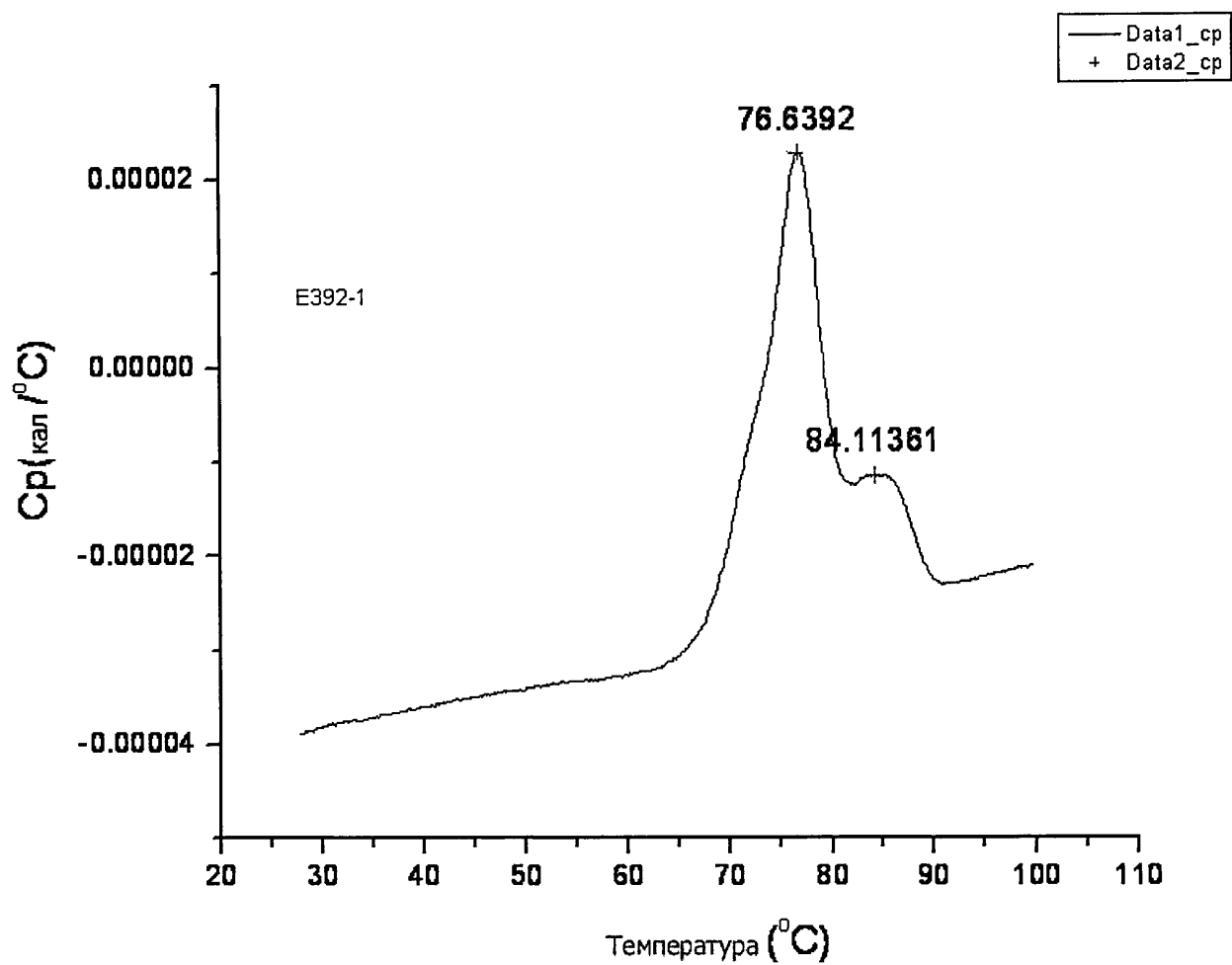
Фиг. 35(18). h#11B7-T18



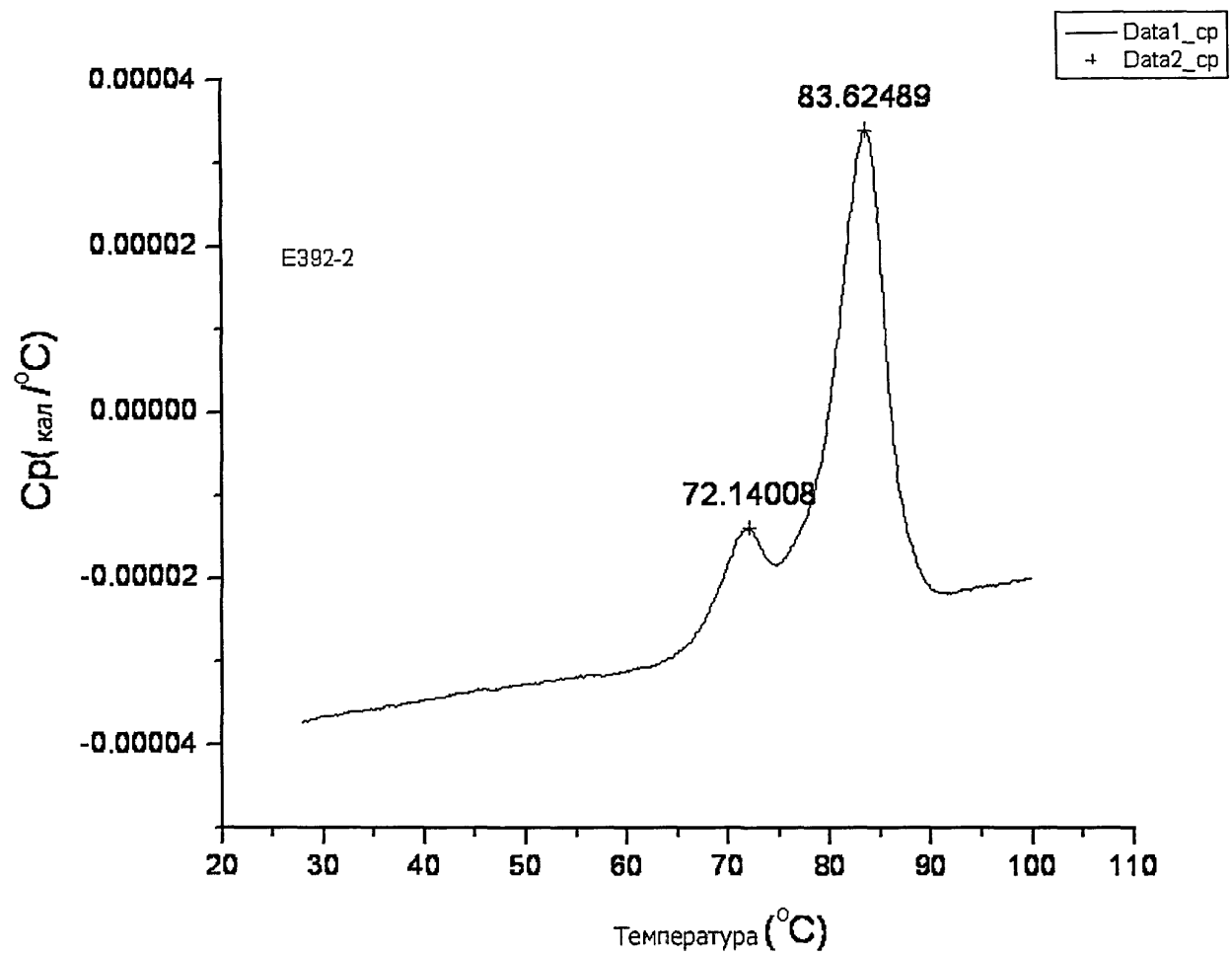
Фиг. 35 (19). h#11B7-T19



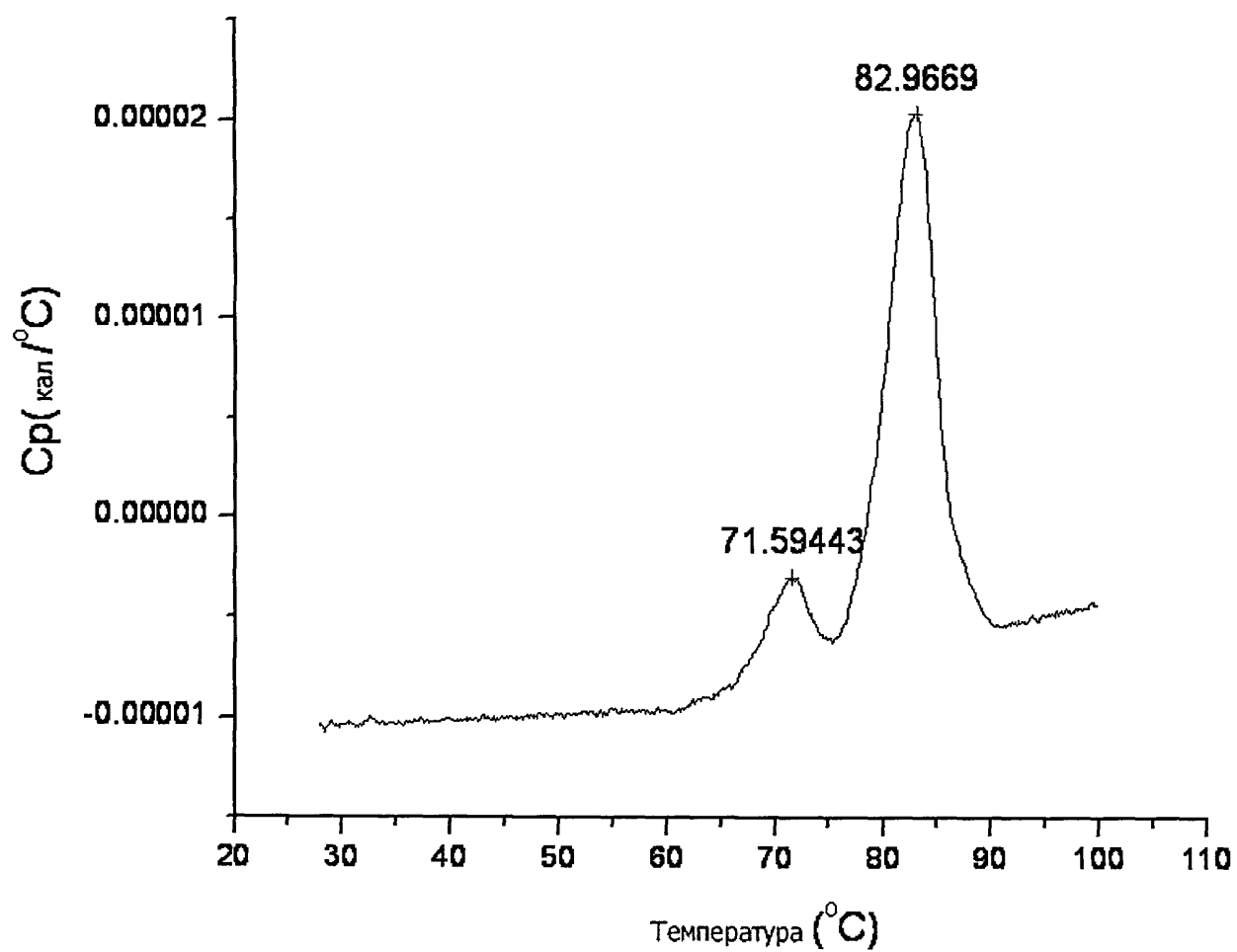
Фиг. 35(20). h#11B7-T20



Фиг. 35(21). h#11B7-T21

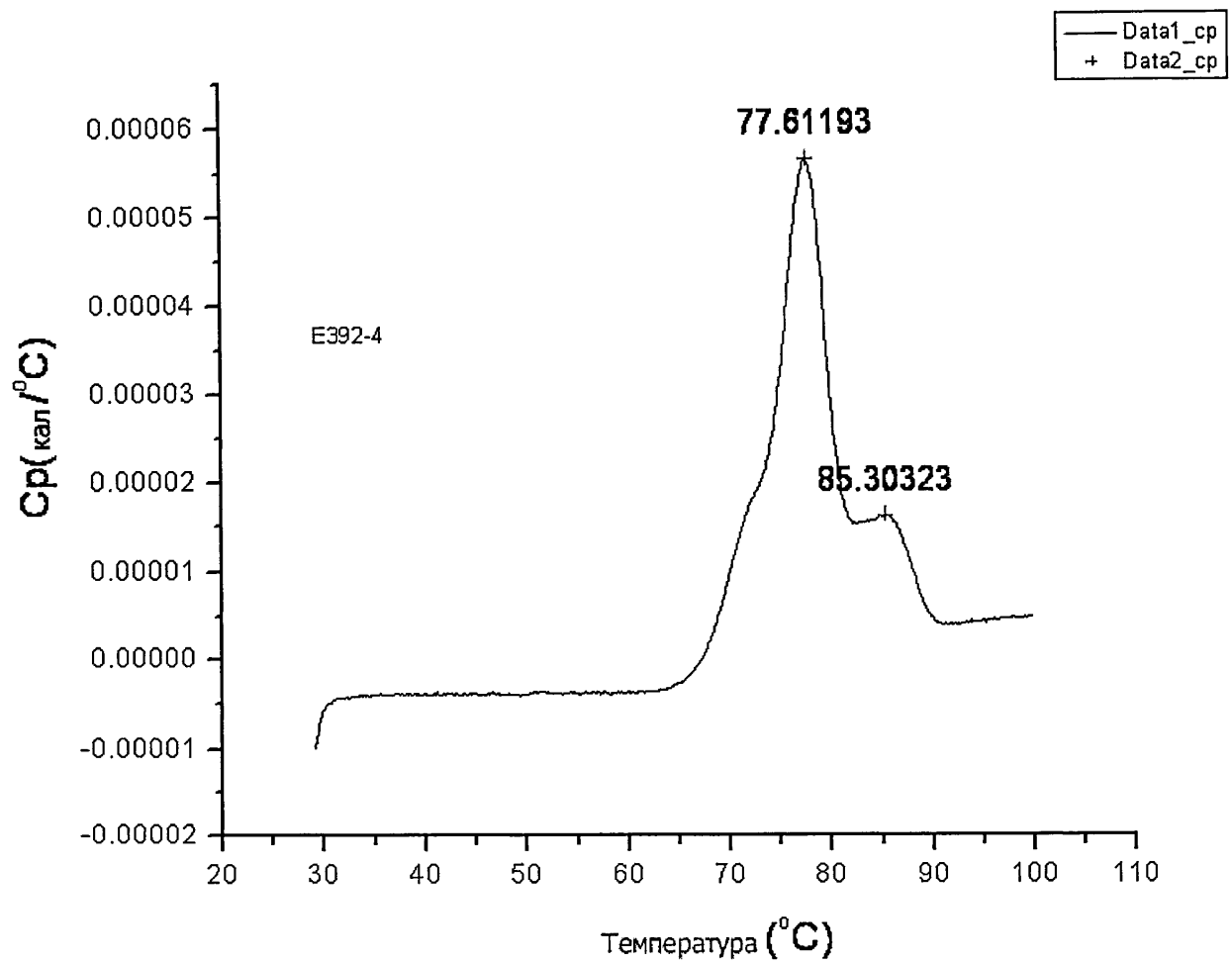


Фиг. 35 (22). h#11B7-T22

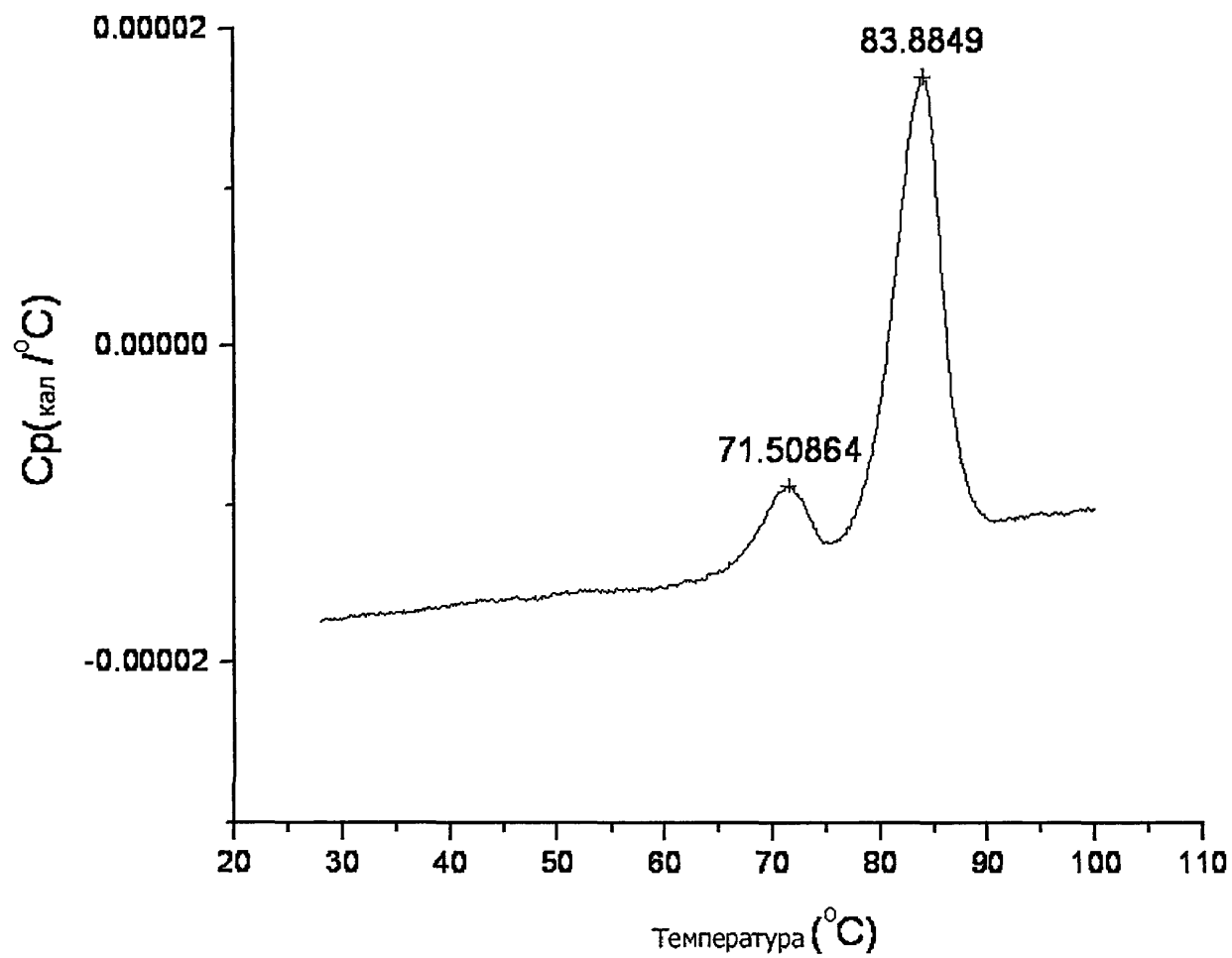


Фиг. 35(23). h#11B7-T23

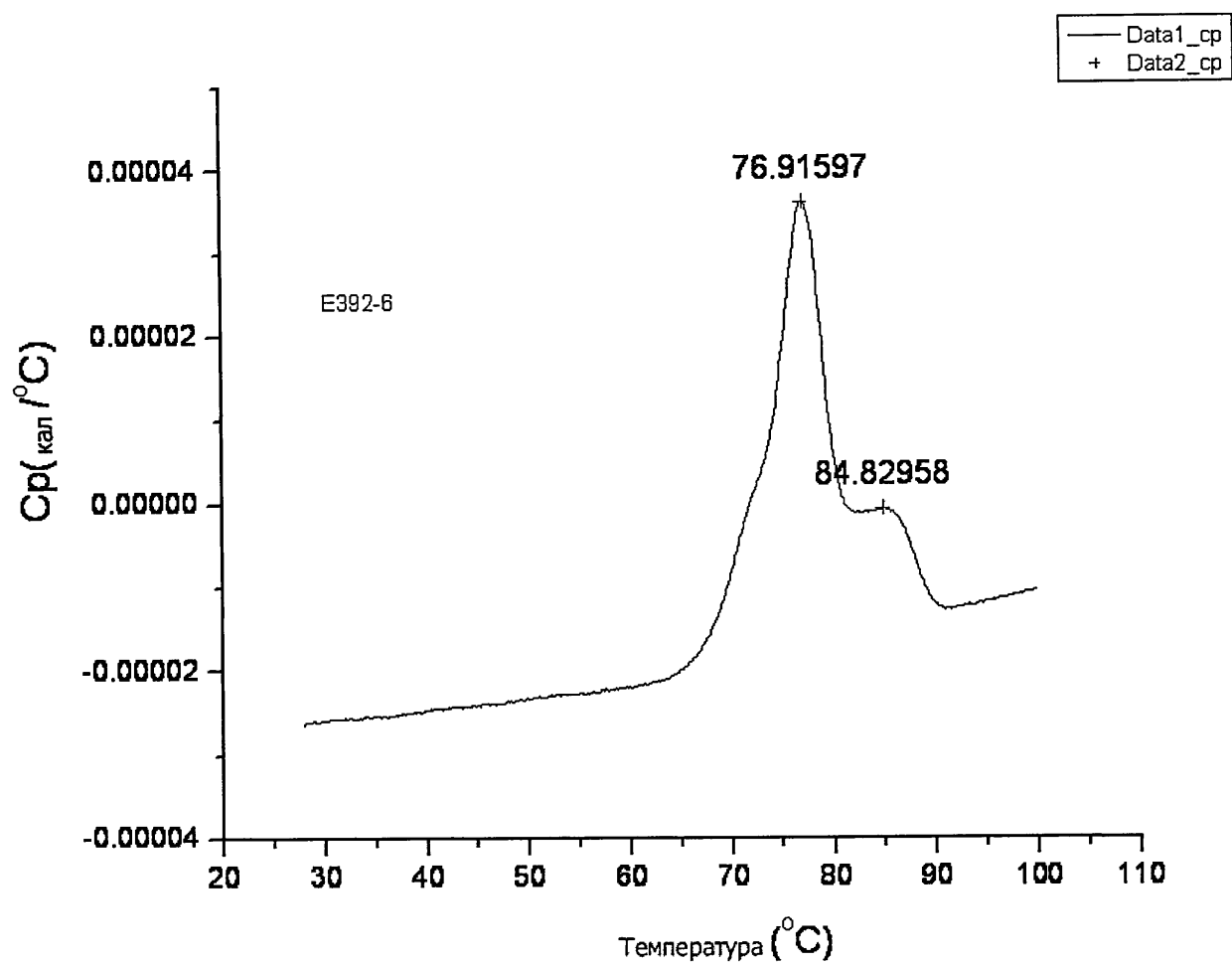




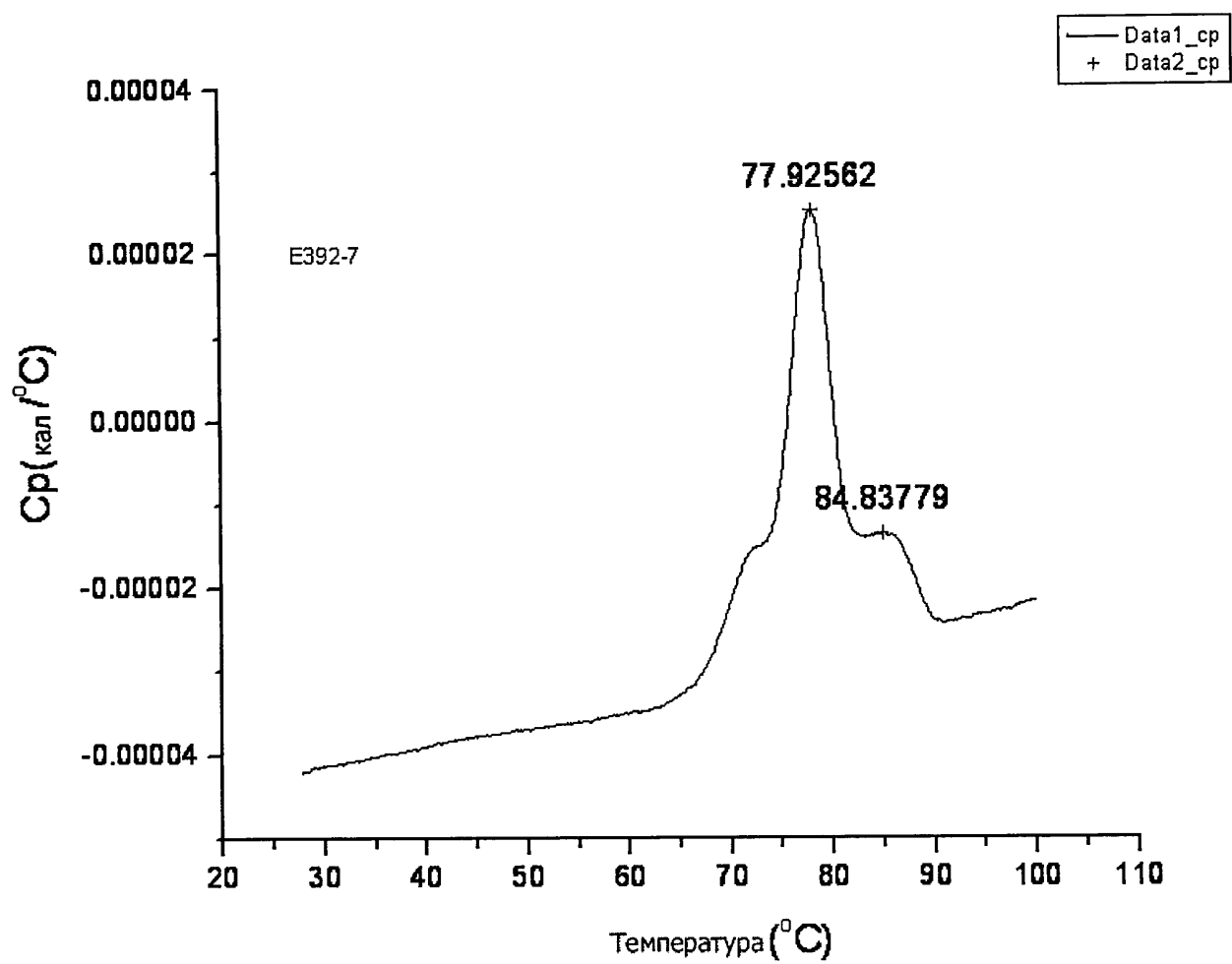
Фиг. 35(24). h#11B7-T24



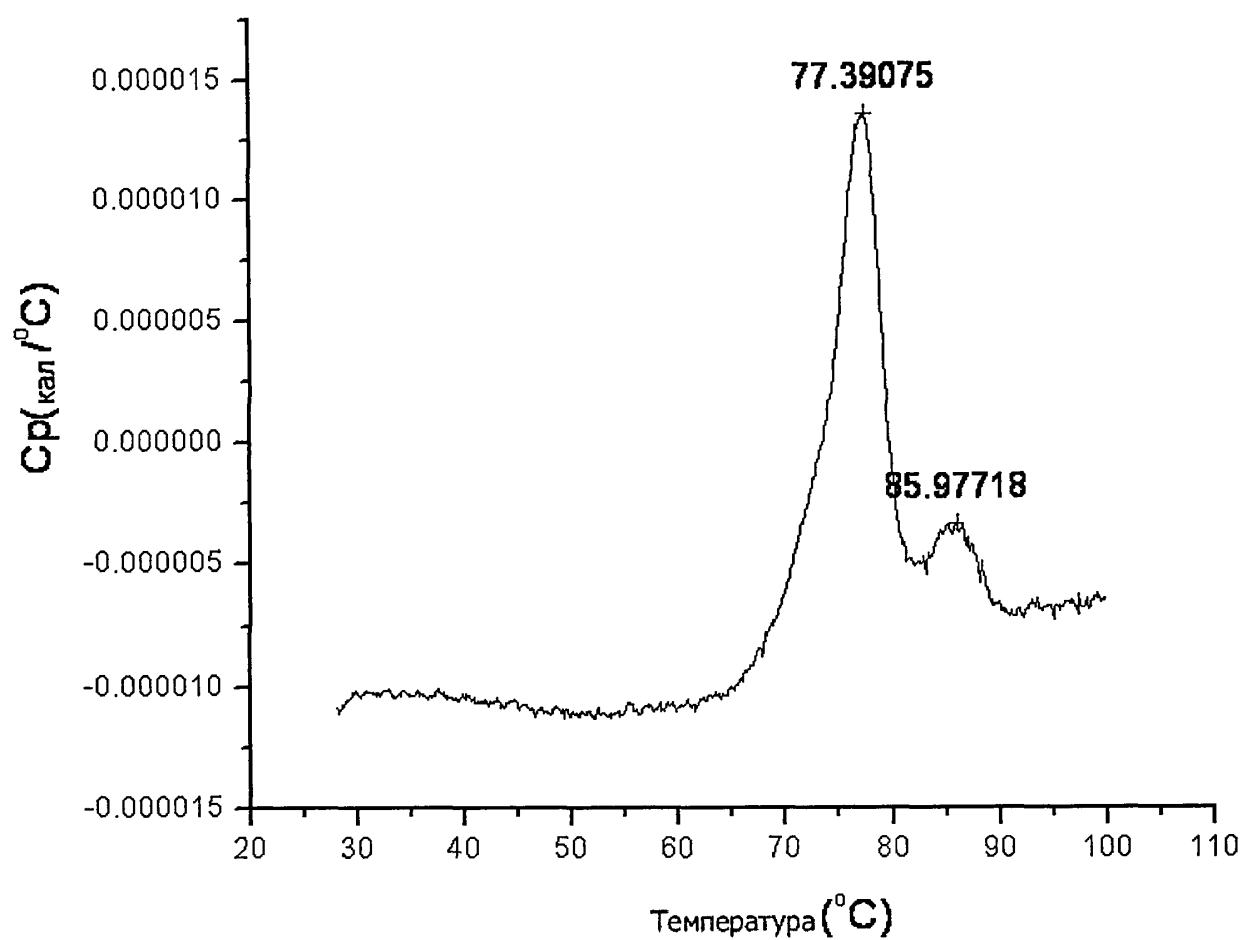
Фиг. 35 (25). h#11B7-T25



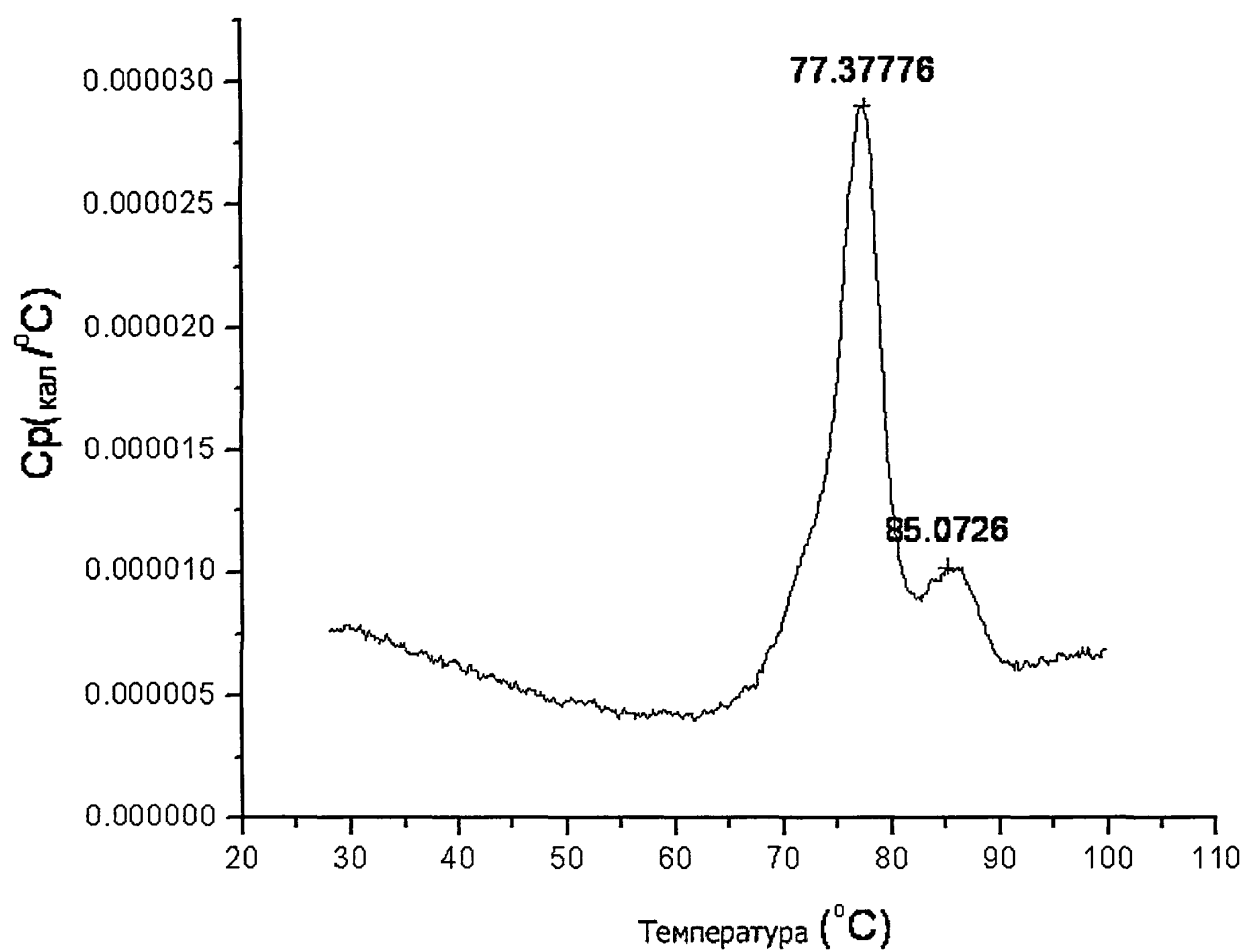
Фиг. 35(26). h#11B7-T26



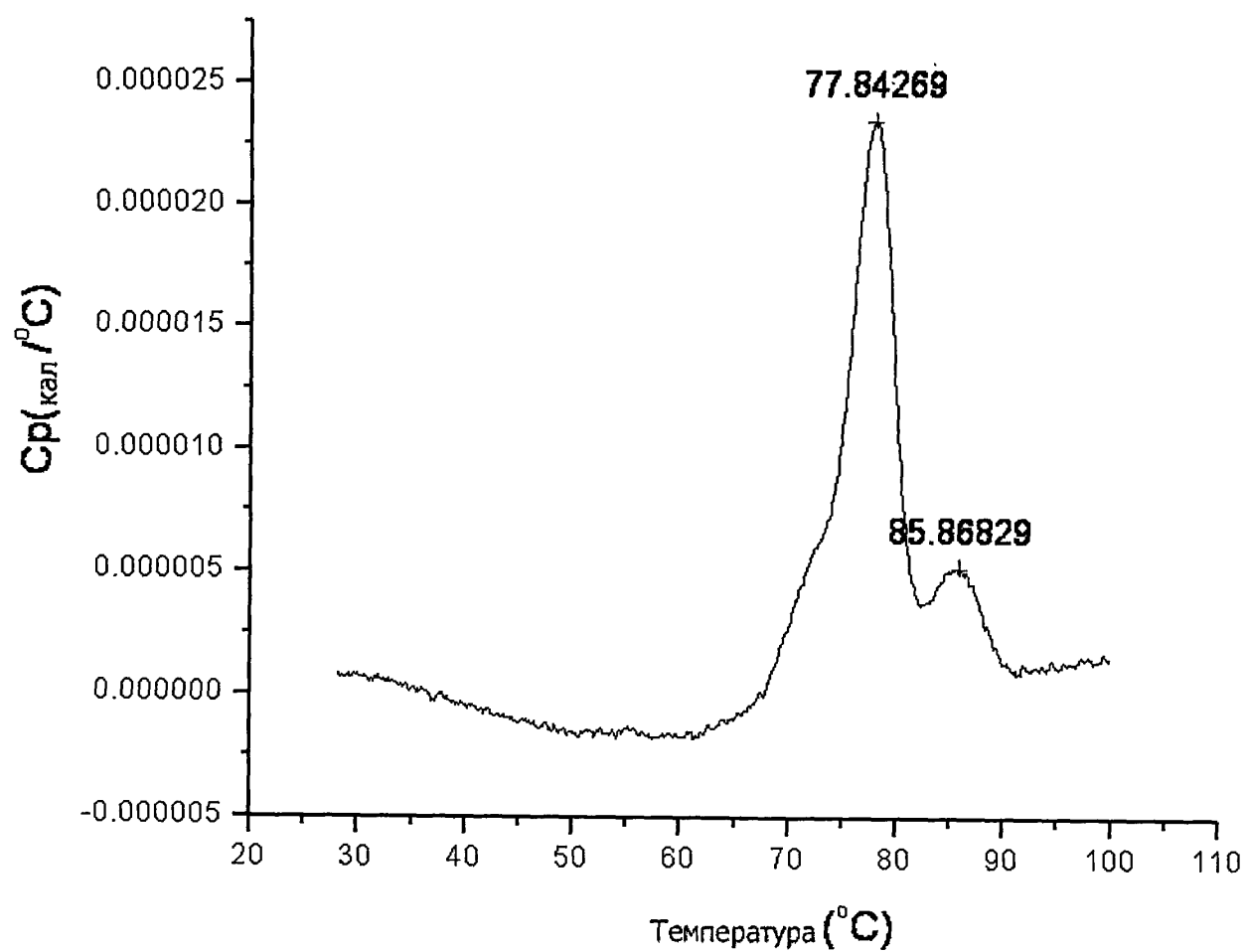
Фиг. 35(27). h#11B7-T27



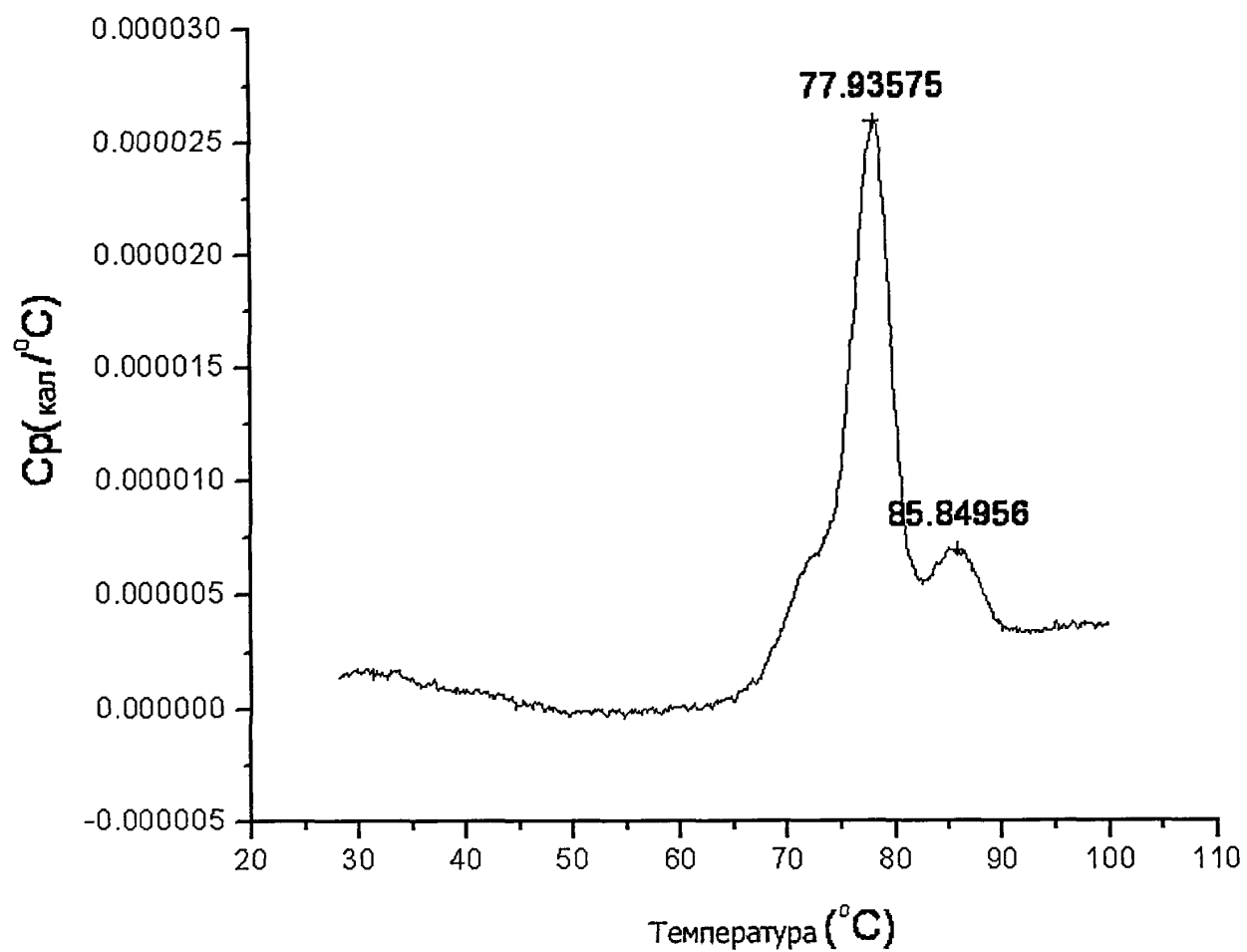
Фиг. 35(28). h#11B7-T28



Фиг. 35(29). h#11B7-T29

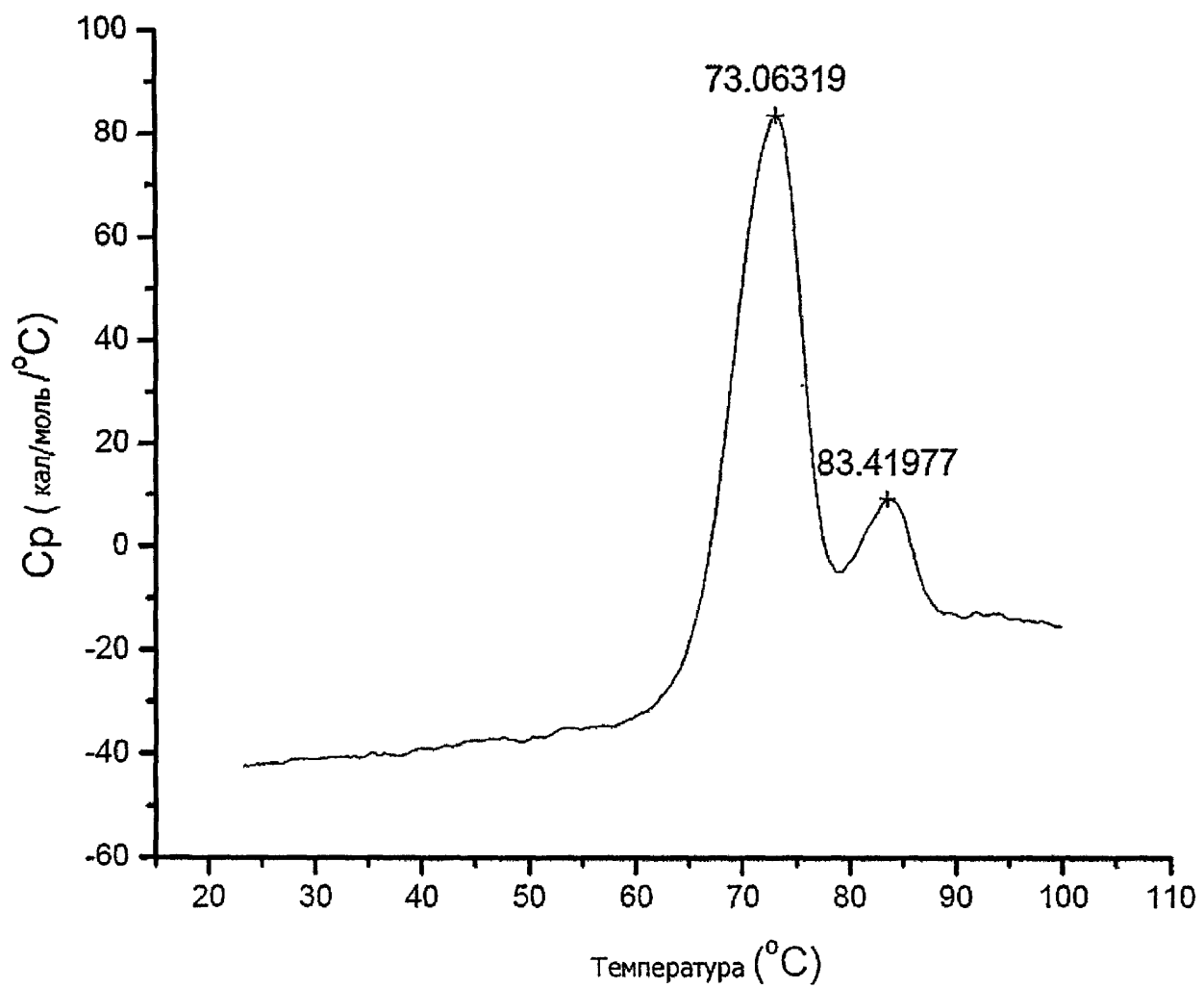


Фиг. 35(30). h#11B7-T30

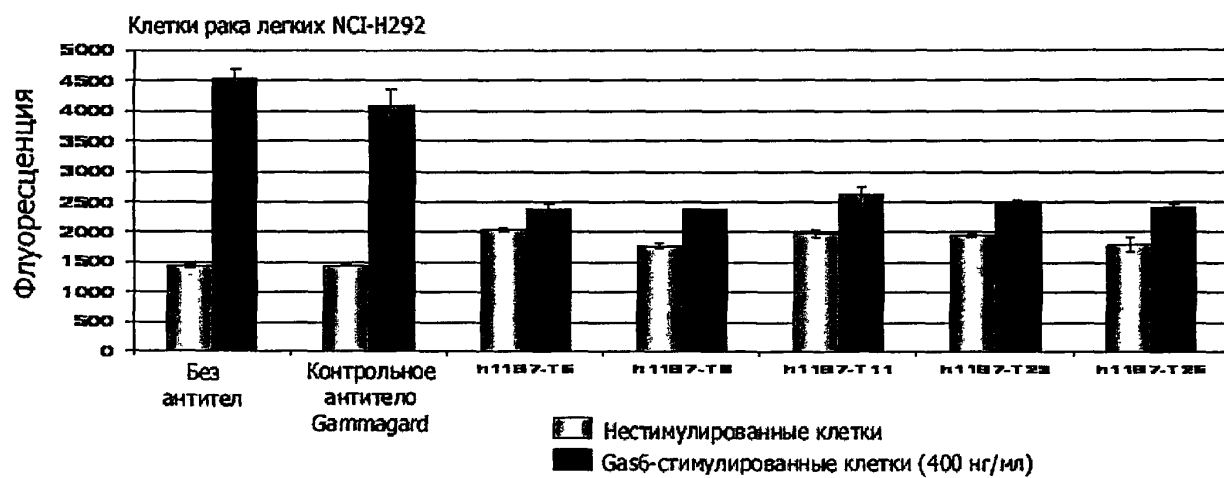
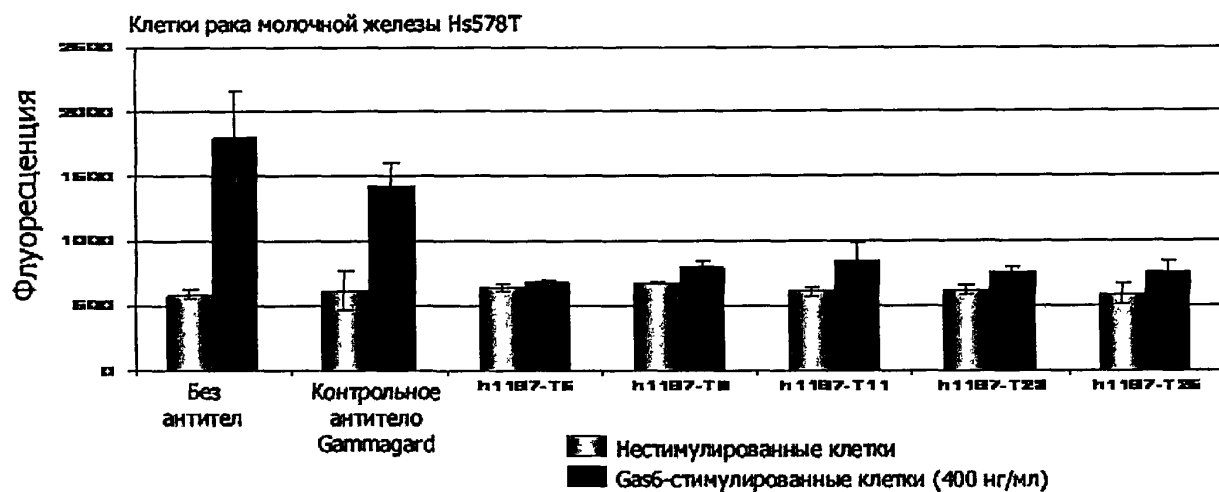


Фиг. 35(31). h#11B7-T31

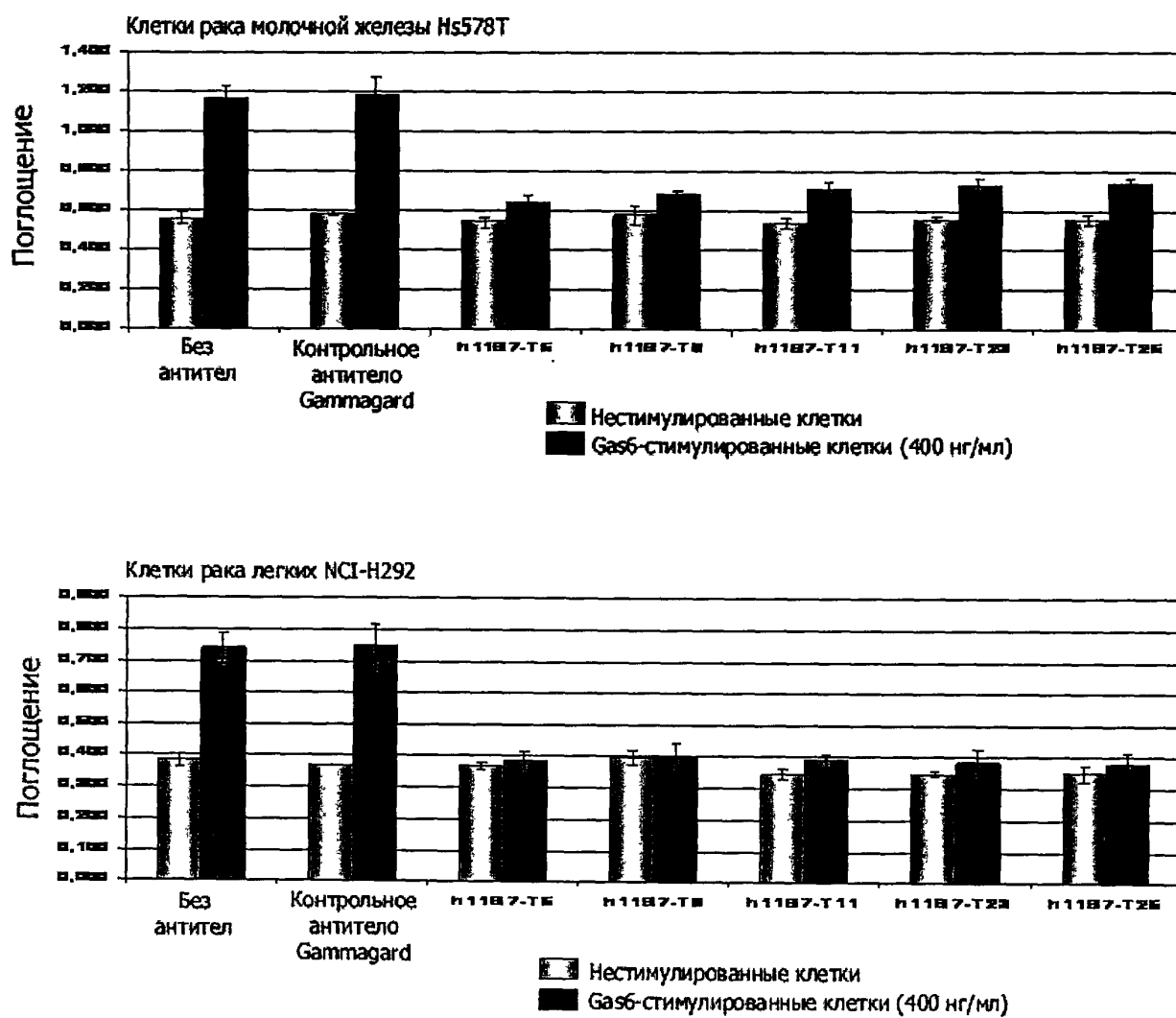




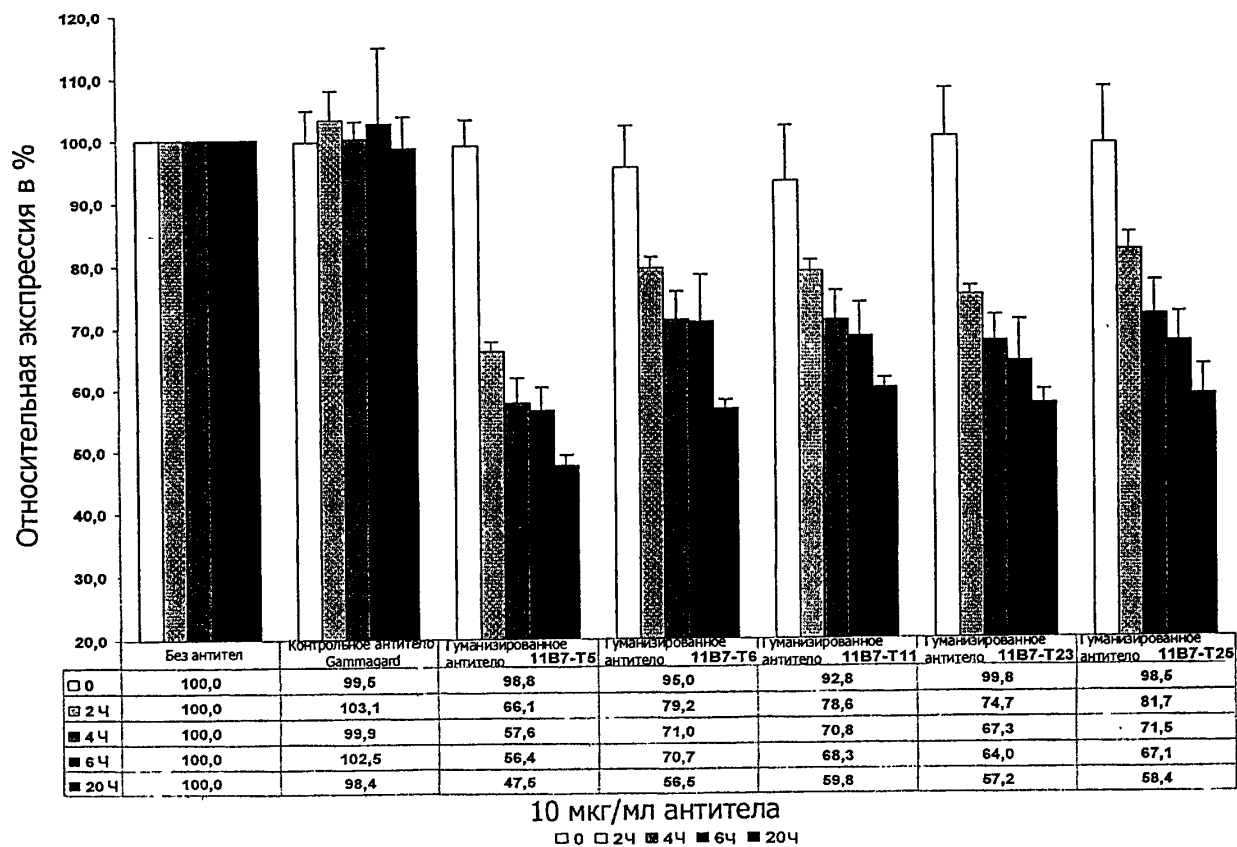
Фиг. 35(32). chimeric h#11B7



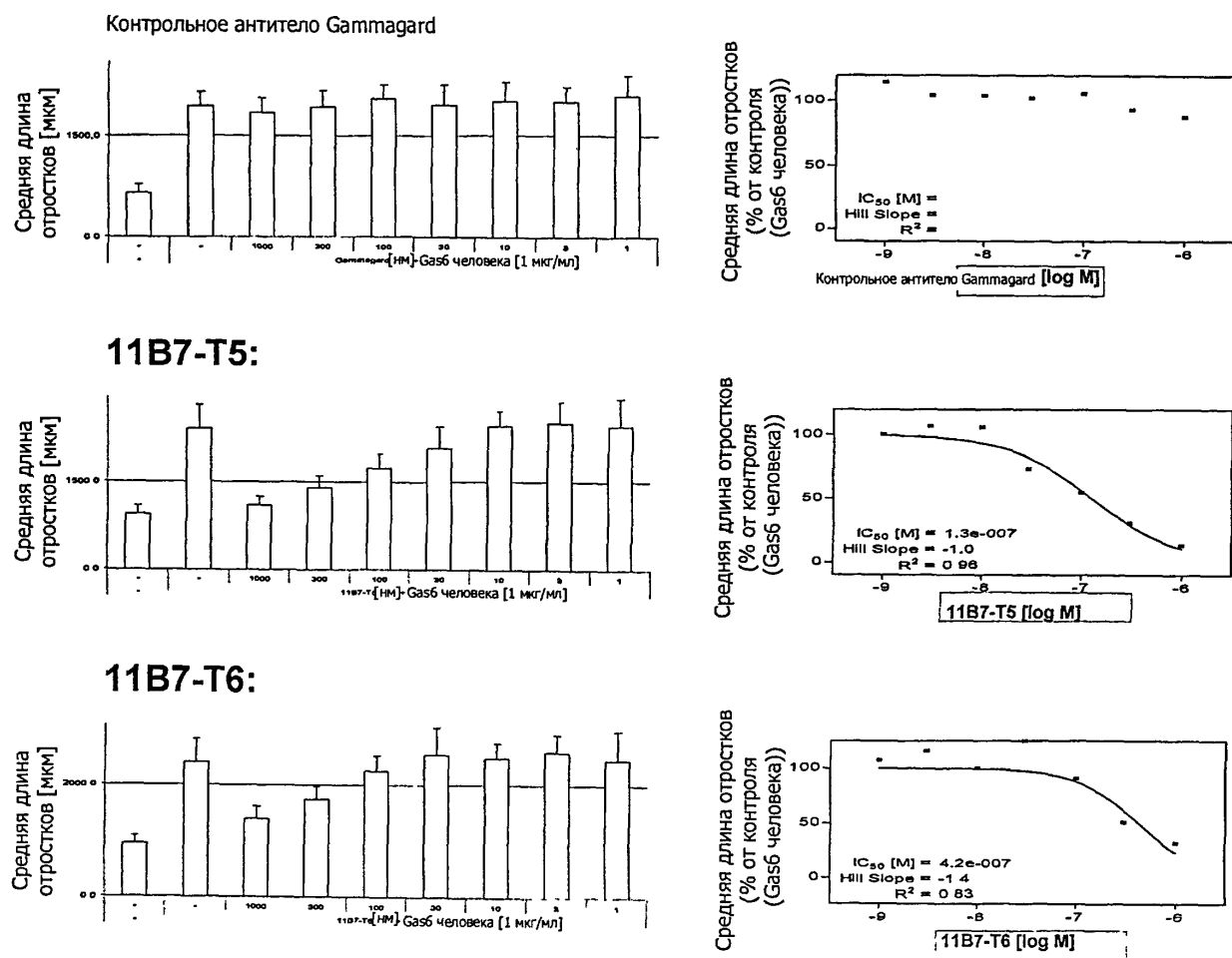
Фиг. 36



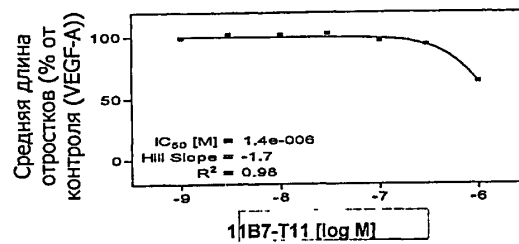
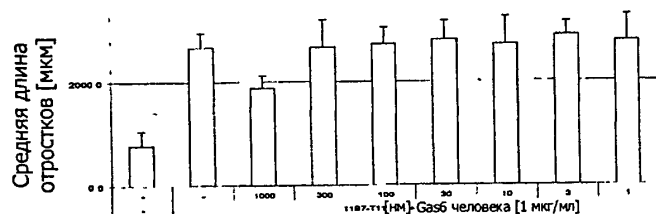
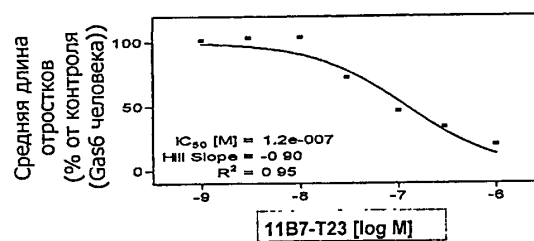
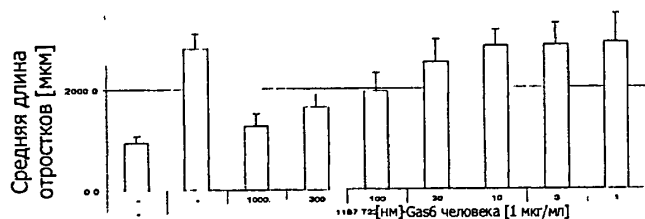
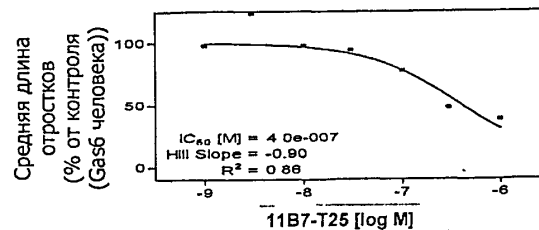
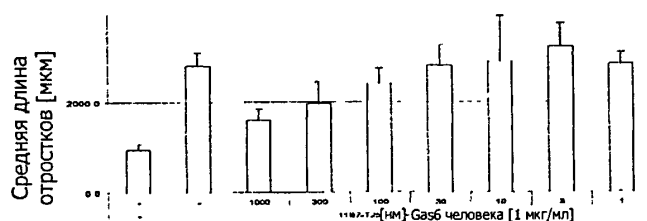
Фиг. 37



Фиг. 38



Фиг. 39А

**11B7-T11:****11B7-T23:****11B7-T25:**

Фиг. 39В