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

(11) PI 0519775-9 B1

(22) Data do Depósito: 20/12/2005

(45) Data de Concessão: 22/02/2022

(54) Título: PROTEÍNA ISOLADA DE LIGAÇÃO A ANTÍGENO, POLINUCLEOTÍDEO ISOLADO, PLASMÍDIO E CÉLULA ISOLADA E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA

(51) Int.Cl.: C07K 16/22; A61K 39/395; A61P 5/00; A61P 9/10; A61P 25/00; (...).

(30) Prioridade Unionista: 22/12/2004 US 60/638,961.

(73) Titular(es): AMGEN INC..

(72) Inventor(es): FRANK J. CALZONE; RAJENDRA V. DESHPANDE; MEI-MEI TSAI.

(86) Pedido PCT: PCT US2005046493 de 20/12/2005

(87) Publicação PCT: WO 2006/069202 de 29/06/2006

(85) Data do Início da Fase Nacional: 12/07/2007

(57) Resumo: PROTEÍNA ISOLADA DE LIGAÇÃO A ANTÍGENO, POLINUCLEOTÍDEO ISOLADO, PLASMÍDIO E CÉLULA ISOLADA E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA. A presente invenção fornece as composições e métodos relacionados ou derivados de anticorpos anti-IGF-1R. Em incorporações particulares, a invenção fornece anticorpos anti-IGF-1R inteiramente humanos, humanizados ou quiméricos que liga IGF-1R humano, fragmentos de ligação a IGF-1R e derivados de tais anticorpos, e polipeptídios de ligação a IGF-IR compreendendo tais fragmentos. Outras incorporações fornecem ácidos nucléicos codificando tais anticorpos, fragmentos de anticorpos .e derivativos e polipeptídios, células que compreendem tais polinucleotídeos, métodos de produção de tais anticorpos, fragmentos de anticorpos e derivativos e polipeptídios, e métodos de utilização de tais anticorpos, fragmentos de anticorpos e derivativos e polipeptídios, incluindo os métodos de tratamento ou de diagnosticar os pacientes que têm desordens ou condições relacionadas a IGF-IR.

"PROTEÍNA ISOLADA DE LIGAÇÃO A ANTÍGENO, POLINUCLEOTÍDEO ISOLADO, PLASMÍDIO E CÉLULA ISOLADA E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA"

424

Referência a Aplicação Relacionada

Este pedido reivindica o benefício do pedido provisional americano número de série 60/638.961, depositado em 22 de dezembro de 2004, e é incorporado por esta referência.

Campo de Invenção

Este pedido fornece as composições e os métodos que relacionam-se aos anticorpos do receptor anti-IGF-1.

Descrição da Técnica Anterior

Os fatores de crescimento de insulina 1 e 2 (IGF-1 e IGF-2, respectivamente) promovem a diferenciação e a proliferação de uma ampla variedade de tipos de células de mamíferos. IGF-1 e IGF-2 ambos circulam extensamente por todo o corpo no plasma. Exercem seus efeitos nas células ligando e ativando o receptor IGF-1 (IGF-IR). IGF-IR é um membro da família dos receptores do fator de crescimento das tirosinas quinase. Sua seqüência de aminoácido é aproximadamente 70% idêntica àquela do receptor de insulina. As atividades anormais de IGF-1, de IGF-2, e/ou de IGF-IR são associadas a um número de condições médicas, incluindo vários tipos de câncer, defeitos do crescimento (por exemplo, acromegalia, gigantismo e estatura pequena), psoríase, ateroscleroses, reestenose pós-angioplastia do músculo liso dos vasos sanguíneos, diabetes, proliferação microvascular, neuropatia, perda da massa do muscular e osteoporose.

Descrição das Figuras

A Figura 1 fornece as seqüências de nucleotídeo que codificam domínios variáveis de cadeias leves L1 até L52 e cadeias pesadas de domínios variáveis H1 até H52.

A Figura 2 fornece seqüências de aminoácido de domínios variáveis de cadeia leve L1 até L52. As regiões CDR e FR são indicadas.

425

A Figura 3 fornece seqüências de aminoácido de domínios variáveis de cadeia pesada H1 até H52. As regiões CDR e FR são indicadas.

A Figura 4 fornece seqüências de aminoácido de cadeia leve de regiões CDR1 de domínios variáveis de cadeia leve L1 até L52. As seqüências consenso para grupos de seqüências CDR relacionadas também são fornecidas.

A Figura 5 fornece seqüências de aminoácido de cadeia leve de regiões CDR2 de domínios variáveis de cadeia leve L1 até L52. As seqüências consenso para grupos de seqüências CDR relacionadas também são fornecidas.

A Figura 6 fornece seqüências de aminoácido de cadeia leve de regiões CDR3 de domínios variáveis de cadeia leve L1 até L52. As seqüências consenso para grupos de seqüências CDR relacionadas também são fornecidas.

A Figura 7 fornece seqüências de aminoácido de cadeia pesadas de regiões CDR1 de domínio variável de cadeia pesada H1 até H52. As seqüências consenso para grupos de seqüências CDR relacionadas também são fornecidas.

Figura 8 fornece seqüências de aminoácido de cadeia pesadas de regiões CDR2 de domínio variável de cadeia pesada H1 até H52. As seqüências consenso para grupos de seqüências CDR relacionadas também são fornecidas.

Figura 9 fornece seqüências de aminoácido de cadeia pesadas de regiões CDR3 de domínio variável de cadeia pesada H1 até H52. As seqüências consenso para grupos de seqüências CDR relacionadas também são fornecidas.

Figura 10 fornece a seqüência de aminoácido de um domínio extracelular humano IGF-IR unido à uma região IgGl Fc humana (sublinhada) com uma intervenção do sítio de clivagem caspase-3 (em negrito).

Figura 11 fornece a seqüência de aminoácido de um domínio extracelular do receptor de insulina humana ligado à uma região IgG1 Fc humana (sublinhada).

Figura 12 fornece a seqüência de proteína de um domínio extracelular de IGF-1R humano (incluindo peptídeo sinal) ligado ao C-terminal com a proteína avidina da galinha. O met de iniciação no IGF-1R ECD é designado na posição 1 desta figura.

Figura 13 fornece a seqüência polipeptídica de uma região constante do anticorpo humano de cadeia leve kappa e de uma região constante de cadeia pesada do anticorpo IgG1 humano.

Figura 14 fornece um gráfico que ilustra quatro anticorpos contendo fagos que ligam-se significativamente melhor a uma molécula IGF-IR-Fc do que a um receptor de insulina Fc ou a um murino Fc .

Figura 15 fornece os gráficos que ilustram a habilidade de determinados anticorpos de competir para ligar-se a IGF-IR com IGF-1 e IGF-2.

Figura 16 fornece os gráficos que ilustram a habilidade de determinados anticorpos de inibir o crescimento de células 32D hu IGF-IR+IRS-1.

Figura 17 fornece os gráficos que ilustram a habilidade de determinados anticorpos de inibir o crescimento de células hu IGF-IR de Balb/C 3T3.

Resumo da Invenção

Em um aspecto, a presente invenção fornece um antígeno isolado ligado a proteína compreendendo: a. uma cadeia leve CDR3 que compreende uma seqüência selecionada do grupo consistindo de: i. uma seqüência de cadeia leve CDR3 que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos e/ou deletados de uma seqüência CDR3 selecionada do grupo que consiste de seqüências de cadeia leve CDR3 de L1-L52 como mostrado na figura 6; ii. M $X_1X_2X_3X_4X_5P$ X_6X_7; iii. Q Q X_8 X_9X_{10} X_{11} P X_{12} T; e iv. Q S Y X_{13} $X_{14}X_{15}$ N $X_{16}X_{17}X_{18}$; b. uma cadeia pesada CDR3 que compreende uma seqüência selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência CDR3 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de três aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 selecionada do grupo que consiste nas seqüências CDR3 de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na Figura 9; ii. X_{19} $X_{20}X_{2l}$ X_{22} X_{23} X_{24} X_{25} $X_{26}X_{27}$F D I; iii. X_{28} X_{29} X_{30} X_{31} X_{32} X_{33} X_{34} X_{35} X_{36} X_{37} X_{38} M D V; iv. D S S X_{39} ; ou c. uma seqüência de CDR3 de cadeia leve (a) e a seqüência de CDR3 de cadeia pesada (b); onde X_1 é um resíduo de glutamina ou um resíduo de glutamato, X_2 é um resíduo de alanina, um resíduo de glicina, um resíduo de treonina ou um resíduo de serina, X_3 é um resíduo de leucina, um

427

resíduo de fenilalanina ou um resíduo de treonina, X_4 é resíduo de glutamina, um resíduo do glutamato ou um resíduo de histidina, X_5 é um resíduo de treonina, um resíduo de metionina, um resíduo de triptofano ou um resíduo de valina, X_6 é um resíduo de glicina, um resíduo da alanina, um resíduo de valina, um resíduo de leucina, um resíduo de isoleucina, um resíduo de prolina, um resíduo de fenilalanina, um resíduo de metionina, um resíduo de triptofano ou um resíduo de cisteína, X_7 é um resíduo de treonina, um resíduo de alanina ou um resíduo de serina, X_8 é um resíduo de arginina, um resíduo de serina, um resíduo de leucina ou um resíduo de alanina, X_9 é um resíduo de asparagina, um resíduo de serina ou um resíduo de histidina, X_{10} é um resíduo da asparagina ou um resíduo de serina, X_{11} é um resíduo de triptofano, um resíduo de valina, um resíduo de tirosina, um resíduo de prolina ou um resíduo de fenilalanina, X_{12} é um resíduo de leucina, um resíduo de tirosina ou um resíduo de isoleucina, X_{13} é um resíduo de aspartato ou um resíduo de glutamina, X_{14} é um resíduo de serina ou um resíduo de prolina, X_{15} é um resíduo de serina, um resíduo de tirosina, um resíduo de aspartato ou um resíduo de alanina, X_{16} é um resíduo de glutamina, um resíduo de arginina, um resíduo de valina ou um resíduo de triptofano, X_{17} é um resíduo de arginina, um resíduo de valina, um resíduo de isoleucina ou nenhum resíduo, X_{18} é um resíduo de valina ou nenhum resíduo, X_{19} é um resíduo de glutamato ou nenhum resíduo, X_{20} é um resíduo de tirosina, um resíduo de glicina, um resíduo de serina ou nenhum resíduo, X_{21} é um resíduo de serina, um resíduo de asparagina, um resíduo de triptofano, um resíduo de glutamato, um resíduo de aspartato ou nenhum resíduo, X_{22} é um resíduo de serina, um resíduo de aspartato, um resíduo de triptofano, um resíduo de alanina, um resíduo de arginina, um resíduo de treonina, um resíduo de glutamina, um resíduo de leucina, um resíduo de glutamato ou nenhum resíduo, X_{23} é um resíduo de serina, um resíduo de glicina, um resíduo da asparagina, um resíduo de treonina, um resíduo do triptofano, um resíduo de valina, um resíduo de alanina ou um resíduo de isoleucina, X_{24} é um resíduo de arginina, um resíduo de glutamina, um resíduo de tirosina, um resíduo de valina, um resíduo de alanina, um resíduo de glicina, um

resíduo de serina, um resíduo de fenilalanina ou um resíduo de triptofano, X_{25} é um resíduo de asparagina, um resíduo de leucina, um resíduo de aspartato, um resíduo de treonina, um resíduo do triptofano, um resíduo de tirosina, um resíduo de valina, um resíduo de alanina ou um resíduo de histidina, X_{26} é um resíduo de aspartato, um resíduo de serina, um resíduo de asparagina ou um resíduo de glutamina, X_{27} é um resíduo de alanina ou um resíduo de prolina, X_{28} é um resíduo de alanina ou nenhum resíduo, X_{29} é um resíduo de glutamato, um resíduo de tirosina, um resíduo de glicina ou nenhum resíduo, X_{30} é um resíduo de arginina, um resíduo de serina ou nenhum resíduo, X_{31} é um resíduo de glicina, um resíduo de aspartato, um resíduo de valina, um resíduo de serina ou nenhum resíduo, X_{32} é um resíduo de serina, um resíduo de aspartato, um resíduo de glicina ou nenhum resíduo, X_{33} é um resíduo de fenilalanina, um resíduo de aspartato, um resíduo de tirosina, um resíduo de glicina, um resíduo de serina, um resíduo de histidina, um resíduo de triptofano ou nenhum resíduo, X_{34} é um resíduo de triptofano, um resíduo de aspartato, um resíduo de tirosina, um resíduo de serina, ou nenhum resíduo, X_{35} é um resíduo de aspartato, um resíduo de glutamato, um resíduo de arginina, um resíduo de serina, um resíduo de glicina, um resíduo de tirosina ou um resíduo de triptofano, X_{36} é um resíduo de tirosina, um resíduo de lisina, um resíduo de isoleucina, um resíduo de leucina ou um resíduo de fenilalanina, X_{37} é um resíduo de tirosina, um resíduo de serina, um resíduo de fenilalanina, um resíduo de aspartato ou um resíduo de glicina, X_{38} é um resíduo de glicina, um resíduo de asparagina ou um resíduo de tirosina, X_{39} é um resíduo de valina, um resíduo de glicina ou um resíduo de serina, e o dito antígeno de ligação proteína liga-se especificamente a IGF-IR humano.

Em uma incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende uma seqüência de aminoácido selecionada do grupo que consiste de: a. uma seqüência CDR1 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de seis aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência de CDR1 de L1-L52 como mostrado na Figura 4; b. uma seqüência CDR2 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de dois

429

aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de L1- L52 como mostrado na Figura 5; c. uma seqüência CDR3 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de três aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de L1-L52 como mostrado na figura 6; d. uma seqüência de CDR1 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência de CDR1 de H1-H52 como mostrado na Figura 7; e. uma seqüência CDR2 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de cinco aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de H1-H52 como mostrado na figura 8; e f. uma seqüência CDR3 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de quatro aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de H1-H52 como mostrado na figura 9.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolado compreende uma seqüência de aminoácidos selecionada do grupo consistindo de: a. uma seqüência CDR1 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de cinco aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência de CDR1 de L1-L52 como mostrado na figura 4; b. uma seqüência CDR2 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de um aminoácido adicionado, substituído, e/ou deletado de uma seqüência CDR2 de L1-L52 como mostrado na figura 5; c. uma seqüência CDR3 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de L1-L52 como mostrado na figura 6; d. uma seqüência CDR1 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de um aminoácido adicionado, substituído, e/ou deletado de uma seqüência de CDR1 de H1-H52 como mostrado na figura 7; e. uma seqüência CDR2 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de quatro aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de H1-H52 como mostrado na figura 8; e f. uma seqüência de CDR3 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de três aminoácidos

adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de H1-H52 como mostrado na figura 9. 430

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende uma seqüência de aminoácido selecionada do grupo consistindo de: a. uma seqüência CDR1 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de quatro aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência de CDRI de L1-L52 como mostrado na figura 4; b. uma seqüência CDR2 de cadeia leve de L1-L52 como mostrado em figura 5; c. uma seqüência CDR3 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de um aminoácido adicionado, substituído, e/ou deletado de uma seqüência CDR3 de L1-L52 como mostrado na figura 6; d. uma seqüência CDR1 de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 7; e. uma seqüência CDR2 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de três aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de H1-H52 como mostrado na figura 8; e f. uma seqüência CDR3 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de H1-H52 como mostrado na figura 9.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende uma seqüência de aminoácido selecionada do grupo consistindo de: a. uma seqüência CDR1 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de três aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência de CDRI de L1-L52 como mostrado na figura 4; b. uma seqüência CDR3 de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 6; c. uma seqüência CDR2 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de H1-H52 como mostrado na figura 8; e d. uma seqüência CDR3 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de um aminoácidos adicionado, substituído, e/ou deletado de uma seqüência CDR3 de H1-H52 como mostrado na figura 9.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolado

431

compreende uma seqüência de aminoácido selecionada do grupo que consiste de: a. uma seqüência CDR1 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência de CDR1 de L1-L52 como mostrado na figura 4; b. uma seqüência CDR2 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de um aminoácidos adicionado, substituído, e/ou deletado de uma seqüência CDR2 de H1-H52 como mostrado na figura 8; e c. uma seqüência CDR3 de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 9.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende uma seqüência de aminoácido selecionada do grupo consistindo de: a. uma seqüência de CDR1 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de um aminoácido adicionado, substituído, e/ou deletado de uma seqüência de CDR1 de L1-L52 como mostrado na figura 4, e b. uma seqüência CDR2 de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 8.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende uma seqüência de CDR1 de L1-L52 como mostrado na figura 4.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende uma seqüência selecionada do grupo que consiste: a. uma seqüência CDR1 de cadeia leve selecionada do grupo que consiste de: i. RSSQSLLHSNGYNYLD; ii. RASQ(G/S)(I/V)(G/S)X(Y/F)L(A/N); e iii. RSSQS(L/I)XXXXX; b. uma seqüência CDR2 de cadeia leve selecionada do grupo que consiste de: i. LGSNRAS; ii. AASTLQS; e iii. EDNXRPS; c. uma seqüência CDR1 de cadeia pesada selecionada do grupo que consiste de: i. SSNWWS; ii. XYYWS; e iii. SYAM(S/H); e d. uma seqüência CDR2 de cadeia pesada selecionada do grupo que consiste de: i. (E/I)(I/V)(Y/N)(H/Y)SGST(N/Y)YNPSLKS; e ii. XIS(G/S)SG(G/S)STYYADSVKG; onde os símbolos do resíduo de aminoácido incluídos nos parênteses identificam resíduos alternativos para a mesma posição em uma seqüência, cada X é independentemente nenhum resíduo de aminoácido, e cada Z é independentemente um resíduo de glicina, um resíduo de alanina, um resíduo de valina, um resíduo de leucina, um resíduo de isoleucina, um resíduo de

prolina, um resíduo de fenilalanina, um resíduo de metionina, um resíduo do triptofano ou um resíduo de cisteína.

Em uma outra incorporação, a proteína obrigatória isolada do antígeno compreende uma seqüência pesada da corrente CDR3 que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de H1-H52 como mostrado na figura 9.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende uma seqüência CDR3 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de um aminoácidos adicionado, substituído, e/ou deletado de uma seqüência CDR3 de H1-H52 como mostrado na figura 9.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende uma seqüência CDR3 de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 9.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende duas seqüências de aminoácido selecionado do grupo consistindo de: a. uma seqüência CDR1 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de seis aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR1 de L1-L52 como mostrado na figura 4; b. uma seqüência CDR2 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de L1-L52 como mostrado na figura 5; c. uma seqüência CDR3 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de três aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de L1-L52 como mostrado na figura 6; d. uma seqüência CDR1 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDRl de H1-H52 como mostrado na figura 7; e. uma seqüência CDR2 de cadeia pesada que difere-se por não mais que um total de cinco aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de H1-H52 como mostrado na figura 8; e f. uma seqüência CDR3 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de quatro aminoácidos adicionados,

433

substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de H1-H52 como mostrado na figura 9.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolado compreende três seqüências de aminoácido selecionadas do grupo que consiste de: a. uma seqüência CDR1 de cadeia leve que difere-se por não mais que um total de seis aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR1 de L1-L52 como mostrado na figura 4; b. uma seqüência CDR2 de cadeia leve que difere-se por não mais que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de L1-L52 como mostrado na figura 5; c. uma seqüência CDR3 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de três aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de L1-L52 como mostrado na figura 6; d. uma seqüência CDR1 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência de CDRI de H1-H52 como mostrado na figura 7; e. uma seqüência CDR2 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de cinco aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de H1-H52 como mostrado na figura 8; e f. uma seqüência CDR3 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de quatro aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de H1-H52 como mostrado na figura 9.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende quatro seqüências de aminoácido selecionadas do grupo consistindo de: a. uma seqüência CDRI de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de seis aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência de CDR1 de L1-L52 como mostrado na figura 4; b. uma seqüência CDR2 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de L1-L52 como mostrado na figura 5; c. uma seqüência CDR3 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de três aminoácidos adicionados,

434

substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de L1-L52 como mostrado na figura 6; d. uma seqüência CDRI de cadeia pesada que difere-se por não mais que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência de CDR1 de H1-H52 como mostrado na figura 7; e. uma seqüência CDR2 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de cinco aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de H1-H52 como mostrado na figura 8; e f. uma seqüência CDR3 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de quatro aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de H1-H52 como mostrado na figura 9.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende cinco seqüências de aminoácidos selecionadas do grupo consistindo de: a. uma seqüência CDR1 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de seis aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência de CDR1 de L1-L52 como mostrado na figura 4; b. uma seqüência CDR2 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de L1-L52 como mostrado na figura 5; c. uma seqüência CDR3 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de três aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de L1-L52 como mostrado nam figura 6; d. uma seqüência CDR1 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência de CDRI de H1-H52 como mostrado na figura 7; e. uma seqüência CDR2 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de cinco aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de H1-H52 como mostrado na figura 8; e f. uma seqüência CDR3 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de quatro aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de H1-H52 como mostrado na figura 9.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada

compreende: a. uma seqüência CDR1 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de seis aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência de CDR1 de L1-L52 como mostrado na figura 4; b. uma seqüência CDR2 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de L1-L52 como mostrado na figura 5; c. uma seqüência CDR3 de cadeia leve que difere-se por não mais do que um total de três aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de L1-L52 como mostrado na figura 6; d. uma seqüência CDR1 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de dois aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência de CDR1 de H1-H52 como mostrado na figura 7; e. uma seqüência CDR2 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de cinco aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR2 de H1-H52 como mostrado na figura 8; e f. uma seqüência CDR3 de cadeia pesada que difere-se por não mais do que um total de quatro aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência CDR3 de H1- H52 como mostrado na figura 9.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende qualquer um: a. domínio variável de cadeia leve compreendendo: i. uma seqüência CDR1 de cadeia leve mostrada na figura 4; ii. uma seqüência CDR2 cadeia leve mostrada na figura 5; e iii. uma seqüência CDR3 de cadeia leve mostrada na figura 6; b. domínio variável de cadeia pesada compreendendo de: i. uma seqüência CDR1 de cadeia pesada mostrada na figura 7; ii. uma seqüência CDR2 de cadeia pesada mostrada na figura 8; e iii. uma seqüência CDR3 de cadeia pesada mostrada na figura 9; ou c. o domínio variável de cadeia leve (a) e o domínio variável de cadeia pesada (b).

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende: a. seqüências de cadeia leve CDR1, CDR2, e CDR3 onde cada uma é idêntica às seqüências CDR1, CDR2 e CDR3, respectivamente, da mesma seqüência de domínio variável de cadeia leve selecionada do grupo que consiste

de L1-L52; b. seqüências de cadeia pesada CDR1, CDR2 e CDR3 onde cada uma é idêntica às seqüências CDR1, CDR2, e CDR3, respectivamente, da mesma seqüência do domínio variável de cadeia pesada selecionada do grupo que consiste de H1-H52; ou c. seqüências CDR1, CDR2, e CDR3 de cadeia leve (a) e as seqüências CDR1 CDR2, e CDR3 de cadeia pesada (b).

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno isolada que compreende: a. uma seqüência de domínio variável de cadeia leve selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência de aminoácidos pelo menos 80% idêntica a uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 2; ii. uma seqüência de aminoácidos que compreendem pelo menos 15 resíduos contínuos de aminoácidos de uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 2; iii. uma seqüência de aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotideo que seja pelo menos 80% idêntica a uma seqüência de polinucleotideo que codifica uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 1; e iv. uma seqüência de aminoácidos que seja codificada por uma seqüência de polinucleotídeo que hibridiza-se sob estritas circunstâncias moderada ao complemento de um polinucleotideo que consiste em uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 1; b. uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência de aminoácidos de pelo menos 80% idêntica a uma seqüência domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 2; ii. uma seqüência de aminoácidos que compreendem pelo menos 15 resíduos de aminoácido contíguos de uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 2; iii. uma seqüência de aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotideo que seja pelo menos 80% idênticos a uma seqüência do polinucleotídeo que codifica uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 1; e iv. uma seqüência de aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotídeo que hibridiza-se sob estritas condições ao complemento de um

437

polinucleotídeo que consiste de uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 1; ou c. domínio variável de cadeia leve (a) e domínio variável de cadeia pesada de (b); onde a dita proteína de ligação ao antígeno liga-se ao IGF-IR humano.

Em uma incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende: a. uma seqüência de domínio variável de cadeia leve selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência de aminoácidos pelo menos 85% idêntica a uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 2; ii. uma seqüência de aminoácido que compreende pelo menos 25 resíduos contíguos de aminoácido de uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 2; iii. uma seqüência de aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotideo que seja pelo menos 85% idêntica a uma seqüência de polinucleotídeo que codifica uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 1; e iv. uma seqüência de aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotídeo que hibridiza-se sob condições altamente estritas ao complemento de um polinucleotideo que consiste em uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 1; b. uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência de aminoácidos pelo menos 85% idêntica a uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 2; ii. uma seqüência de aminoácidos que compreende pelo menos 25 resíduos sólidos de aminoácido de uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 2; iii. uma seqüência de aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotídeo que seja pelo menos 85% idêntica a uma seqüência de polinucleotídeo que codifica uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura .1; e iv. uma seqüência de aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotídeo que hibridiza-se sob condições altamente estritas ao complemento de um polinucleotídeo que consiste em uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na

figura 1; ou c. domínio variável de cadeia leve (a) e domínio variável de cadeia pesada de (b).

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende entre outras: a. uma seqüência de domínio variável de cadeia leve selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência de aminoácidos pelo menos 90% idêntica a uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 2; ii. uma seqüência de aminoácidos que compreende pelo menos 35 resíduos sólidos do aminoácido de uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 2; e iii. uma seqüência de aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotídeos que seja pelo menos 90% idêntica a uma seqüência de polinucleotídeos que codifica uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 1; e b. uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência de aminoácidos pelo menos 90% idêntica a uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 2; ii. uma seqüência de aminoácidos que compreende pelo menos 35 resíduos contíguos do aminoácido de uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 2; e iii. uma seqüência de aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotídeos que seja pelo menos 90% idêntica a uma seqüência de polinucleotideo que codifica uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 1; ou c. o domínio variável de cadeia leve de (a) e o domínio variável de cadeia pesada de (b).

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende: a. uma seqüência de domínio variável de cadeia leve selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência de aminoácidos pelo menos 95% idêntica a uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 2; ii. uma seqüência de aminoácidos que compreende pelo menos 50 resíduos contíguos do aminoácido de uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 2; e iii. uma seqüência de

439

aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotídeos que seja pelo menos 95% idêntica a uma seqüência de polinucleotideo que codifica uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 1; e b. uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência de aminoácidos pelo menos 95% idêntica a uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 2; ii. uma seqüência de aminoácidos que compreendem pelo menos 50 resíduos contíguos de aminoácidos de uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 2; e iii. uma seqüência de aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotídeos que seja pelo menos 95% idêntica a uma seqüência de polinucleotídeo que codifica uma sequência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 1; ou c. o domínio variável de cadeia leve de (a) e o domínio variável de cadeia pesada (b).

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende: a. uma seqüência de domínio variável de cadeia leve selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência de aminoácidos pelo menos 97% idêntica a uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 2; ii. uma seqüência dos aminoácidos que compreendem pelo menos 75 resíduos contíguos de aminoácidos de uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 2; e iii. uma seqüência de aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotídeo que seja pelo menos 97% idêntica a uma seqüência de polinucleotídeo que codifica uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 1; e b. uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência dos aminoácidos pelo menos 97% idêntica a uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 2; ii. uma seqüência de aminoácidos que compreende pelo menos 75 resíduos sólidos do aminoácido de uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 2, e iii. uma seqüência de

aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotídeos que seja pelo menos 97% idêntica a uma seqüência de polinucleotídeo que codifica uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 1; ou c. o domínio variável de cadeia leve de (a) e o domínio variável de cadeia pesada de (b).

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende: a. uma seqüência de domínio variável de cadeia leve selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência de aminoácidos pelo menos 99% idêntica a uma seqüência domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 2; ii. uma seqüência de aminoácidos que compreende pelo menos 90 resíduos contíguos do aminoácido de uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 2; e iii. uma seqüência de aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotídeo que seja pelo menos 99% idêntica a uma seqüência de polinucleotídeo que codifica uma seqüência de domínio variável de cadeia leve de L1-L52 como mostrado na figura 1; e b. uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência de aminoácidos pelo menos 99% idêntica a uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 2; ii. uma seqüência de aminoácidos que compreende pelo menos 90 resíduos sólidos de aminoácidos de uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 2, e iii. uma seqüência de aminoácidos codificada por uma seqüência de polinucleotídeos que seja pelo menos 99% idêntica a uma seqüência de polinucleotídeo que codifica uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado na figura 1; ou c. domínio variável de cadeia leve de (a) e domínio variável de cadeia pesada de (b).

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende: a. uma seqüência de domínio variável de cadeia leve selecionada do grupo que consiste de L1-L52 como mostrado na figura 2; b. uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada selecionada do grupo que consiste de H1-H52 como

mostrado na figura 3; ou c. o domínio variável de cadeia leve de (a) e o domínio variável de cadeia pesado de (b).

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma combinação de um domínio variável de cadeia leve e de um domínio variável de cadeia pesada selecionado do grupo que consiste de: LIHI, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, LIOHIO, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20, H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50, L51H51 e L52H52.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende também: a. a seqüência constante de cadeia leve kappa da figura 13, b. a seqüência constante de cadeia pesada de IgGI da figura 13, ou c. a seqüência constante da cadeia leve kappa da figura 13 e a seqüência constante da cadeia pesada de IgGI da figura 13.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada, quando ligada a IGF-1R: a. inibe IGF-1R; b. ativa IGF-1R; c. compete cruzadamente com um anticorpo de referência para ligar-se a IGF-1R; d. liga-se ao mesmo epítope de IGF-1R que o do dito anticorpo da referência; e. liga-se a IGF-1R com substancialmente o mesmo Kd do dito anticorpo da referência; ou f. liga-se a IGF-1R com substancialmente a mesma taxa do dito anticorpo de referência; onde o dito anticorpo de referência compreende uma combinação de seqüência de domínios variváveis de cadeia leve e de domínios variáveis de cadeia pesada selecionadas do grupo que consiste das combinações: LIHI, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, LIOHIO, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20, H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50,

462

L51H51 e L52H52.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolado, quando ligada a um IGF-1R humano, inibe a ligação de IGF-1 e/ou de IGF-2 ao dito IGF-IR humano.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada inibe o crescimento de uma célula cancerígena em aproximadamente 80% na presença de um estimulante de crescimento selecionado do grupo consistindo de soro, IGF-1, e IGF-2.

Em uma outra incorporação, a dita célula cancerígena é uma célula cancerígena do seio humano MCF-7.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada liga a IGF-1R humano com uma seletividade que seja pelo menos cinqüenta vezes maior do que sua seletividade para o receptor humano de insulina.

Em uma outra incorporação, proteína de ligação ao antígeno isolada inibe o crescimento in vivo do tumor.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada inibe IGF-1R mediado por fosforilação da tirosina.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada liga-se especificamente ao IGF-1R de um primata não-humano, de um macaco cinomolgo, de um chimpanzé, de um mamífero não-primata, de um roedor, de um rato, de um camundongo, de um hamster, de uma cobaia, de um gato, ou de um cão.

Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno isolada compreende: a. um anticorpo humano; b. um anticorpo humanizado; c. um anticorpo quimérico; d. um anticorpo monoclonal; e. um anticorpo policlonal; f. um anticorpo recombinante; g. um fragmento de antígeno ligado ao anticorpo; h. um anticorpo de cadeia unica; i. um dicorpo; j. um tricorpo; k. um tetracorpo; l. um fragmento de Fab; m. um fragmento F $(ab')_2$; n. um anticorpo de domínio; o. um anticorpo de IgD; p. um anticorpo de IgE; q. um anticorpo de IgM; r. um anticorpo de IgG1; s. um anticorpo IgG2; t. um anticorpo IgG3; u. um anticorpo IgG4; ou V.

um anticorpo IgG4 contendo pelo menos uma mutação em uma região da dobra que ameniza a tendência de formação de cadeia intra- H bissulfeto.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece um polinucleotídeo isolado que compreende uma seqüência que codifica a cadeia leve, a cadeia pesada, ou ambas da dita proteína de ligação ao antígeno.

Em uma incorporação, o dito polinucleotídeo compreende uma seqüência de domínio variável de cadeia leve do ácido nucléico da figura 1 e/ou uma seqüência de domínio variável de cadeia pesada do ácido nucléico do domínio da figura 1.

Em uma outra incorporação, um plasmídio compreende o dito polinucleotídeo isolado.

Em uma outra incorporação, o dito plasmídio é um vetor de expressão.

Em uma outra incorporação, uma célula isolada compreende o dito polinucleotídeo.

Em uma outra incorporação, um cromossomo da dita célula compreende o dito polinucleotídeo.

Em uma outra incorporação, a dita célula é um hibridoma.

Em uma outra incorporação, um vetor de expressão compreende o dito polinucleotídeo.

Em uma outra incorporação, a dita célula é uma célula de CHO.

Em uma outra incorporação, a presente invenção fornece um método de produção de uma proteína de ligação ao antígeno que liga-se ao IGF-1R humano, compreendendo a incubação da dita célula isolada sob condições que permitem a expressão da dita proteína de ligação ao antígeno.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece uma composição farmacêutica que compreende a proteína de ligação ao antígeno.

Em uma incorporação, a presente invenção fornece um método de tratamento de uma condição de um sujeito que consiste em administrar a dita composição farmacêutica ao dito sujeito, onde a dita condição é tratada reduzindo a atividade de IGF-1R no dito sujeito.

444

Em uma outra incorporação o dito sujeito é um ser humano.

Em uma outra incorporação, a dita condição é um mieloma múltiplo, um tumor líquido, um câncer do fígado, uma desordem do timo, uma doença autoimmune mediada por célula-T, uma desordem endócrina, isquemia ou uma desordem neurodegenerativa.

Em uma outra incorporção, o dito tumor líquido é selecionado do grupo que consiste de uma leucemia linfocítica aguda (ALL) e de uma leucemia mielogênica crônica (CML); onde o dito câncer de fígado é selecionado do grupo consistindo de, hepatoma, carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma, angiosarcomas, hemangiosarcomas, hepatoblastoma; a dita desordem do timo é selecionada do grupo consistindo de: timoma e de tiroidites, a dita doença autoimmune mediada por células-T é selecionada do grupo que consiste na esclerose múltipla, artrite reumatóide, Lupus sistemático eritomatoso (SLE), doença de Grave's, tireodite de Hashimoto, Miastenia Gravi's, tireodites auto-immune, doença de Bechet, a dita desordem endocrinológica é selecionada do grupo consistindo de Diabetes tipo II, hipertireoidismo, hipotireoidismo, tireoidites, hiperadrenocorticismo e hipoadrenocorticismo; a dita isquemia é uma isquemia de infarto pós-cardíaco, ou a dita desordem neurodegenerativa é uma doença de Alzheimer.

Em uma outra incorporação, a dita condição é selecionada do grupo que consiste de: acromegalia, câncer da bexiga, tumor de Wilm's, câncer ovariano, câncer pancreático, hiperplasia prostática benigna, câncer de mama, câncer de próstata, câncer de osso, câncer de pulmão, câncer coloretal, câncer cervical, sarcoma sinovial, diarréia associada ao peptídeo intestinal carcinóide, metástase vasoativa secretando tumores, gigantismo, psoríase, aterosclerose, reestenose do músculo liso de vasos sanguíneos, proliferação microvascular inapropriada, glioblastoma, meduloblastoma, câncer escamoso da cabeça e da garganta, câncer oral, leucoplasia oral, neoplasia intraepitelial da próstata, câncer anal, câncer esofageal, câncer gástrico, câncer do osso, câncer metastático, policitemia rubra vera, uma condição benigna relacionada ao stress oxidativo, retinopatia de prematuridade, síndrome de dificuldade respiratória aguda, uma overdose de

445

acetominofena, displasia broncopulmonariana, fibrose cística, fibrose pulmonar e retinopatia diabética.

Em uma outra incorporação, o método ainda compreende administrar ao dito sujeito um segundo tratamento.

Em uma outra incorporação, o dito segundo tratamento é administrado ao dito sujeito antes e/ou simultaneamente com e/ou depois que a dita composição farmacêutica é administrada ao dito sujeito.

Em uma outra incorporação, o dito segundo tratamento compreende o tratamento de radiação, cirurgia, ou uma segunda composição farmacêutica.

Em uma outra incorporação, a dita segunda composição farmacêutica compreende um agente selecionado do grupo que consiste em um corticosteróide, um antiemético, hidrocloreto ondansetron, hidrocloreto granisetron, metroclopramida, domperidona, haloperidol, ciclizina, lorazepam, proclorperazina, dexametasona, levomepromazina, tropisetron, uma vacina de câncer, um agente inibidor GM-CSF, uma vacina de DNA de GM-CSF, uma vacina de base celular, uma vacina de células dendríticas, uma vacina viral recombinante, uma vacina de proteína de choque quente (HSP), uma vacina de tumor alogênica, uma vacina de tumor autólogo, um analgésico, ibuprofeno, naproxeno, trisalicilato de cloro magnésio, um hidrocloreto do oxicodone, um agente anti-angiogênico, um agente anti-vascular, bevacizumab, um anticorpo anti-VEGF, um anticorpo do receptor de anti-VEGF, um fragmento solúvel do receptor de VEGF, anticorpo anti-TWEAK, anticorpo do receptor anti-TWEAK, um fragmento solúvel do receptor TWEAK, AMG 706, AMG 386, um agente antiproliferativo, um inibidor da transferase da proteína farnesil, um inibidor αvβ3, um inibidor αvβ5, um inibidor p53, um kit do inibidor do receptor, um inibidor do receptor ret, um inibidor de PDGFR, um inibidor de secreção do hormônio de crescimento, um inibidor de angiopoietina, um agente inibidor da infiltração do tumor por macrófagos, agente inibidor do fms, um anticorpo anti-c-frns, um agente inibidor de CSF-I, anticorpo anti-CSF-1, c-fms um fragmento solúvel, pegvisomante, gemcitabina, panitumumab, irinothecan, e SN-38.

446

Em uma outra incorporação, o dito método compreende a administração ao dito sujeito de um terceiro tratamento.

Em uma outra incorporação, a dita condição é um câncer, o dito segundo tratamento compreende a administração do panitumumab e o dito terceiro tratamento compreende a administração do gemcitabina.

Em uma outra incorporação, a dita circunstância é selecionada do grupo consistindo de acromegalia, câncer da bexiga, tumor de Wilm's, câncer ovariano, câncer pancreático, hiperplasia prostática benigna, câncer de mama, câncer de próstata, câncer do osso, câncer de pulmão, câncer coloretal, câncer cervical, sarcoma sinovial, diarréia associada ao peptídeo intestinal carcinóide, metástase vasoativa secretando tumores, gigantismo, psoríase, aterosclerose, reestenose do músculo liso de vasos sanguíneos, câncer escamoso microvascular impróprio da célula de proliferação, do glioblastoma, do medullablastoma, da cabeça e da garganta, câncer oral, leucoplasia oral, neoplasia intraepitelial da próstata, câncer anal, câncer esofageal, câncer gástrico, câncer do osso, câncer metastático, policitemia, uma condição benigna relacionada ao stress oxidativo, retinopatia de prematuridade, síndrome de dificuldade respiratória aguda, um overdose de acetaminofena, displasia broncopulmonariana, fibrose cística, fibrose pulmonar e retinopatia diabética.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece um método de aumentar a longevidade do sujeito que compreende a administração da dita composição farmacêutica ao dito sujeito.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece um método de diminuir a atividade de IGF-1R em um paciente na necessidade que compreende a administração da dita composição farmacêutica ao dito paciente.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece um método de diminuir IGF-IR que sinaliza em um sujeito conforme a necessidade que compreende a administração da dita composição farmacêutica ao dito sujeito.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece um método de inibir a ligação de IGF-1 e/ou de IGF-2 a IGF-1R em um sujeito conforme a necessidade

447

deste que compreende a administração da dita composição farmacêutica ao dito sujeito.

Descrição Detalhada da Invenção

A presente invenção fornece composições, kits e métodos que relacionam-se às moléculas que ligam-se ao receptor do fator de crescimento semelhante a insulina ("IGF-IR"), incluindo as moléculas que agonize ou antagonizem IGF- 1R, como anticorpos anti-IGF-1R, fragmentos de anticorpos e dos derivados de anticorpos, por exemplo, anti- anticorpos de IGF-1R, fragmentos de anticorpos, ou derivados antagonístico de anticorpos. São fornecidos também os ácidos nucléicos, os derivados e os fragmentos destes, compreendendo uma seqüência de nucleotídeos que codificam tudo ou uma parte de um polipeptídio que se liga a IGF-1R, por exemplo, o todo ou uma parte codificada do ácido nucléico de um anticorpo anti-IGF-1R, um fragmento de anticorpos ou um derivado de anticorpos, plasmídios e vetores compreendendo tais ácidos nucléicos, e células ou linhagens de células que compreendem tais ácidos nucléicos e/ou vetores e plasmídios.

Os métodos fornecidos incluem, por exemplo, métodos de produção, de identificação ou de isolamento de moléculas que ligam-se a IGF-1R, tal como, anticorpos anti-IGF-1R, métodos que determinam se uma molécula se liga a IGF-1R, métodos que determinam se uma molécula agoniza ou antagoniza IGF-1R, métodos de produção de composições, tais como composições farmacêuticas, compreendendo uma molécula que se liga a IGF-1R e métodos para administrar uma molécula que se liga IGF-1R a um sujeito, por exemplo, métodos para tratar uma condição mediada por IGF-1R, e para agonizar ou antagonizar uma atividade biológica de IGF-1R, de IGF-1 e/ou de IGF-2 in vivo ou in vitro.

Os polinucleotídeos e as seqüências de polipeptídios são indicados usando o padrão de abreviaturas de uma ou três letras. A menos que indicadas de outra maneira, as seqüências de polipeptídio têm seu amino-terminal na esquerda e seu carboxi-terminal na direita e nas seqüências de cadeia única de ácido nucléico, e a parte superior de seqüências de cadeia dupla do ácido nucléico, tem seu 5'-terminal na esquerda e seu 3'- terminal na direita.

448

Uma seqüência particular de polipeptídio ou de polinucleotídeo também pode ser descrita explicando como difere-se de uma seqüência da referência. Os polinucleotídeos e as seqüências particulares de polipeptídios de domínios variáveis de cadeia leve e pesada são mostrados nas figuras 1, 2 e 3, onde são marcados, por exemplo, L1 ("domínio variável de cadeia leve 1"), H1 ("domínio variável de cadeia pesada 1"), os anticorpos etc. que compreendem uma cadeia leve e a cadeia pesada das figuras 2 e 3 são indicados combinando o nome dos domínios variáveis de cadeia leve e o nome dos domínios variáveis de cadeia pesada. Por exemplo, "L4H7," indica um anticorpo que compreende o domínio variável de cadeia leve L4 e o domínio variável de cadeia pesada H7.

A menos que de outra maneira aqui definidos, os termos científicos e técnicos usados em relação à presente invenção terão os significados que são compreendidos geralmente por um técnico especializado do assunto. Além disso, a menos que requerido de outra maneira pelo contexto, os termos singulares incluirão pluralidade e os termos plurais incluirão o singular. Geralmente, as nomenclaturas usadas em relação às técnicas, à cultura celular e de tecido, à biologia molecular, à imunologia, à microbiologia, à genética e à química de proteína e à hibridização do ácido nucléico descritos aqui são aquelas bem conhecidas e usadas geralmente no estado da técnica.

Os métodos e as técnicas da presente invenção são executados geralmente de acordo com os métodos convencionais bem conhecidos do estado da técnica e como descritos nas várias referências gerais e mais específicas são citadas e discutidas durante todo o presente relatório a menos que indicadas de outra maneira. Ver, por exemplo, Sambrook e outros. "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" (Clonagem Molecular: manual de laboratório), 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989) e Ausubel et al., "Current Protocols in Molecular Biology", (Protocolos atuais em Biologia Molecular) Greene Publishing Associates (1992) e Harlow and Lane "Antibodies: A Laboratory Manual" (Anticorpos: Um manual de Laboratório) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1990),), que são incorporadas aqui pela

449

referência.

As reações e as técnicas de purificação enzimáticas são executadas de acordo com especificações do fabricante, como realizado geralmente no estado da técnica ou como descrito aqui. A terminologia usada em relação aos procedimentos de laboratório e às técnicas, de química analítica, de química orgânica sintética e de química medicinal e farmacêutica descrita aqui são aquelas bem conhecidas e usadas geralmente no estado da técnica. As técnicas padrão podem ser usadas para sínteses químicas, análises químicas, preparação farmacêutica, formulação e distribuição e tratamento dos sujeitos.

Os seguintes termos, a menos que indicados de outra maneira, são compreendido para ter os seguintes significados:

O termo "molécula isolada" (onde a molécula é, por exemplo, um polipeptídio, um polinucleotídeo ou um anticorpo) no qual, é uma molécula que pela virtude de sua origem ou pela fonte de derivação (1) não é associado com os componentes naturalmente associados que a acompanham em seu estado nativo, (2) estão substancialmente livres de outras moléculas da mesma espécie (3) são expressos por uma célula de uma espécie diferente, ou (4) não ocorrem na natureza. Assim, uma molécula que sintetizada quimicamente ou sintetizada em um sistema celular diferente da célula de que origina naturalmente, "será isolada" de seus componentes naturalmente associados. Uma molécula também pode ser tornada substancialmente livre de componentes naturalmente associados pela isolação, usando técnicas de purificação bem conhecidas do estado da técnica. A pureza ou a homogeneidade da molécula pode ser analisada por vários meios bem conhecidos do estado da técnica. Por exemplo, a pureza de uma amostra de polipeptídio pode ser analisada usando a eletroforese em gel de poliacrilamida e correr o gel para visualizar o polipeptídio usando técnicas bem conhecidos do estado da técnica. Para determinadas finalidades, uma definição mais elevada pode ser fornecida usando o HPLC ou outros meios bem conhecidos do estado da técnica para a purificação.

Os termos "inibidor IGF-1R" e "antagonista IGF-1R" são usados

450

permutavelmente. Cada uma destas é uma molécula que detectavelmente inibe pelo menos uma função de IGF-1R. Inversamente, "um agonista IGF-1R" é uma molécula que detectavelmente aumenta pelo menos uma função de IGF-1R. A inibição causada por um inibidor de IGF-1R não necessita estar completa porque é detectada usando um ensaio. Em todo o ensaio de uma função de IGF-1R pode ser usado, os exemplos de que são fornecidos aqui. Os exemplos das funções de IGF- 1R que podem ser inibidos por um inibidor de IGF-1R ou aumentado por um agonista de IGF-1R, incluem a ligação a IGF-1, a IGF- 12 e/ou a uma outra molécula de ativação de IGF-1R, atividade quinase, sinalização "downstream" e assim por diante. Os exemplos dos tipos de inibidores de IGF-IR e de agonistas de IGF-1R incluem, mas não são limitados a, polipeptídios de ligação a IGF-1R tais como proteínas de ligação a antígeno (por exemplo, proteínas de ligação ao antígeno inibir de IGF-1R), anticorpos, fragmentos de anticorpos e derivados de anticorpos.

Os termos "peptídeo", "polipeptídio" e "proteína" referem-se a uma molécula que compreende dois ou mais resíduos de aminoácido ligados um ao outro por uma ligação peptídica. Estes termos abrangem, por exemplo, proteínas, fragmentos de proteína e análogos nativos e artificiais de polipeptídio (tais como, mutantes, variantes, e proteínas de fusão) de uma seqüência da proteína tanto pós-traduzidas ou de outra maneira, proteínas modificadas covalentemente ou não-covalentemente. Um peptídeo, um polipeptídio ou uma proteína podem ser monoméricos ou poliméricos.

O termo "fragmento de polipeptídio" como usado aqui, refere-se a um polipeptídio que tenha uma deleção amimo-terminal e/ou carboxi-terminal quando comparado a uma proteína inteira correspondente. Os fragmentos podem ser, por exemplo, de pelo menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 50, 70, 80, 90, 100, 150 ou 200 aminoácidos no comprimento. Os fragmentos podem também ser, por exemplo, na maioria de 1.000, 750, 500, 250, 200, 175, 150, 125, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 15, 14, 13, 12, 11, ou 10 aminoácidos no comprimento. Um fragmento pode além disso compreender, em qualquer uma ou em ambas as suas

451

extremidades, um ou mais aminoácido adicionais, por exemplo, uma seqüência de aminoácidos de uma proteína natural diferente (por exemplo, um domínio de Fc ou de leucina zipper) ou uma seqüência de aminoácido artificial (por exemplo, uma seqüência artificial do linker).

Os polipeptídios da invenção incluem os polipeptídios que foram modificados por qualquer maneira e por qualquer razão, por exemplo para: (1) reduzir a susceptibilidade a proteólise, (2) reduzir a susceptibilidade à oxidação, (3) alterar afinidade de ligação para formar complexos de proteína, (4) alterar afinidade de ligação e (4) conferir ou modificar outras propriedades físico-químicas ou funcionais.

Os análogos incluem mutações de um polipeptídio. Por exemplo, substituições únicas ou múltiplas do aminoácido (por exemplo, substituições conservadoras do aminoácido) podem ser feitas na seqüência natural (por exemplo, na porção do polipeptídio fora dos domínios que formam os contatos intermoleculares. "Uma substituição conservadora do aminoácido" é uma que não muda substancialmente as características estruturais da seqüência parenteral (por exemplo, um aminoácido de recolocação não deve tender a quebrar uma hélice que ocorra na seqüência parenteral, ou interromper outros tipos de estrutura secundária que caracterizem a seqüência parenteral ou que seja necessário para sua funcionalidade). Os exemplos de estruturas secundárias e terciárias reconhecidas do estado da técnica do polipeptídio são "Proteins, Structures and Molecular Principles" (Princípios Moleculare e Estruturais das Proteínas) (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Protein Structure (Introdução a estrutura das Proteínas) (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N. Y. (1991)); e Thornton et at. Nature 354: 105 (1991), que são cada um incorporados aqui por sua referência.

A presente invenção fornece também análogos de não- peptídeos de polipeptídios ligados a IGF- 1R. Os análogos do peptídeo são usados geralmente nas indústrias farmacêuticas, como drogas com as propriedades análogas àquelas do peptídeo de molde. Estes tipos de composto não-peptídico são denominados

452

de "peptídeo miméticos" ou "peptideomiméticos". Fauchere, J. Adv. Drug Res. 15:29 (1986); Veber and Freidinger TINS p.392 (1985); and Evans et al. J. Med. Chem. 30:1229 (1987), que são incorporadas aqui por sua referência. Os peptídeo miméticos que são estruturalmente similares aos peptídeos terapeuticamente úteis, podem ser usados para produzir um efeito terapêutico ou profilático equivalente. Geralmente, os peptideomiméticos são estruturalmemte similares a um polipeptídio de paradigma (isto é, um polipeptídio que tenha uma propriedade bioquímica desejada ou uma atividade farmacológica), como um anticorpo humano, mas tem uma ou mais ligações pepitídicas substituídas opcionalmente por uma ligação selecionada do grupo consistindo de: $-CH_2NH-$, $-CH_2S-$, $-CH_2-CH_2-$, ~CH=CH-(cis e trans), - $COCH_2-$, $-CH(OH)CH_2-$, and $-CH_2SO$, por métodos de ligação conhecidos do estado da técnica.

A substituição sistemática de um ou mais aminoácido de uma seqüência consenso com um D-aminoácido do mesmo tipo (por exemplo, D-lisina no lugar do L-lisina) pode também ser usada para gerar peptídeos mais estáveis. Além disso, os peptídeos confinados que compreendem uma seqüência consenso ou uma variação substancialmente idêntica da seqüência consenso podem ser gerados pelos métodos conhecidos do estado da técnica (Rizo e Gierasch. Rev Ann. Biochem. 61:387 (1992), incorporado aqui por sua referência), por exemplo, adicionando os resíduos internos de cisteína capazes de formar pontes bissulfeto intramoleculares que ciclizam o peptídeo.

Uma "variante" de um polipeptídio (por exemplo, um anticorpo) compreende uma seqüência de aminoácidos onde um ou os mais resíduos de aminoácidos são introduzidos, deletados e/ou substituídos na seqüência de aminoácidos relativa a uma outra seqüência do polipeptídio. As variantes da invenção incluem proteínas de fusão.

Um "derivado" de polipeptídio é um polipeptídio (por exemplo, um anticorpo) que tenha sido modificado quimicamente, por exemplo, através da conjugação a uma outra fração química, tal como, por exemplo, polietileno glicol, albumina (por exemplo, albumina do soro humana), fosforilação e glicolização.

453

A menos que indicado de outra maneira, o termo "anticorpo" inclui, além dos anticorpos que compreendem duas cadeias pesadas totalmente completas e duas cadeias leves completas, derivados, variantes, fragmentos e mutações deste, os exemplos destes são descritos abaixo.

O termo "uma proteína de ligação a antígeno" é uma proteína que compreende uma porção que liga-se a um antígeno e, opcionalmente, a uma porção fragmentada ou deletada da porção de ligação ao antígeno adotando uma conformação que promove a ligação entre a proteína de ligação ao antígeno e o antígeno. Exemplos de proteínas de ligação a antígeno incluem anticorpos, fragmentos de anticorpos (por exemplo, uma porção de ligação ao antígeno de um anticorpo), derivados de anticorpos e análogos de anticorpos. A proteína de ligação ao antígeno pode compreender, por exemplo, uma estrutura alternativa da proteína ou uma estrutura artificial com os derivados enxertados de CDRs ou de CDR. Tais estruturas incluem, mas não são limitados a, estruturas derivadas de anticorpos que compreendem as mutações introduzidas para, por exemplo, estabilizar a estrutura tridimensional da proteína de ligação ao antígeno bem como as estruturas completamente sintéticas que compreendem, por exemplo, um polímero biocompatível. Ver, por exemplo, Korndorfer et al., 2003, Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics (Proteínas: Estrutura, Função e Bioinformática), Volume 53, Issue 1:121-129; Roque et al., 2004, Biotechnol. Prog. 20:639- 654. Além disso, o anticorpo mimético do peptídeo ("PAMs") pode ser usado, assim como estruturas baseadas no anticorpo mimético que utiliza componentes de fibronecção como um estrutura.

Uma proteína de ligação ao antígeno pode ter, por exemplo, a estrutura de uma imunoglobulina natural. Uma "imunoglobulina" é uma molécula tetramérica. Em uma imunoglobulina natural, cada tetrâmero é composto de dois pares idênticos de cadeia polipeptídica, cada alça: contendo uma cadeia "leve" (aproximadamente 25 KDa) e uma cadeia "pesada" (aproximadamente 50-70 KDa). A parte amino-terminal de cada cadeia inclui uma região variável de aproximadamente 100 a 110 ou mais aminoácidos, primeiramente responsáveis

454

para o reconhecimento do antígeno. A porção carboxi-terminal de cada cadeia define uma região constante, primeiramente responsável para a função efetora. As cadeias leves humanas são classificadas como cadeia leves kappa e lambda. As cadeias pesadas são classificadas como mu, delta, gama, alfa ou epsilon, e definem o isotipo do anticorpo como IgM, IgD, IgG, IgA, e IgE, respectivamente. Dentro das cadeias leves e pesadas, as regiões variáveis e constantes são ligadas por uma região "J" de aproximadamente 12 ou mais aminoácidos, com a cadeia pesada também incluindo uma região "D" de aproximadamente 10 ou mais aminoácidos. Ver geralmente, Fundamental Immunology (Imunologia fundamental) Ch. 7 (Paul, W., ed., 2o ed. Raven Press, N.Y. (1989) (incorporado pela referência em sua totalidade para todas as finalidades). As regiões variáveis de cada par de cadeias leves/pesadas formam o sítio de ligação do anticorpo, de forma que uma imunoglobulina intacta tenha dois sítios de ligação. As regiões variáveis de cada par de cadeia leve/pesada formam o sítio de ligação do anticorpo de forma que uma imunoglobulina intacta tenha dois sítios de ligação.

Naturalmente as cadeias de imunoglobulina exibem a mesma estrutura geral das regiões relativamente conservadas da estrutura (FR) ligadas por três regiões hipervariáveis, chamadas também regiões de determinação de complementaridade ou CDRs. Do N-terminal ao C-terminal, ambas as cadeias leve e pesada compreendem os domínios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 e FR4. A atribuição dos aminoácidos a cada domínio é de acordo com as definições de Kabat e outros em " Sequences of Proteins of Immunological Interest", 5th Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication no. 91-3242, 1991.

Um "anticorpo" refere-se a uma imunoglobulina intacta ou a uma porção de ligação ao antígeno deste que compete com o anticorpo intacto para a ligação específica, a menos que especificado de outra maneira. As porções de ligação ao antígeno podem ser produzidas por técnicas de DNA recombinante ou por clivagem enzimática ou química de anticorpos intactos. As porções de ligação ao antígeno incluem, entre outros, Fab, Fab', F(ab')2, Fv, anticorpos do domínio

455

(dAbs), e fragmentos de região de determinação de complementaridade (CDR), anticorpos de cadeia simples (scFv), anticorpos, diacorpos, triacorpos, tetracorpos, e os polipeptídios quiméricos que contêm pelo menos uma porção de uma imunoglobulina suficiente para conferir a ligação do antígeno específico ao polipeptídio.

Um fragmento de Fab é um fragmento monovalente que tem os domínios V_L, V_H, C_L e CH_1; um fragmento F (ab')2 é um fragmento bivalente que tem dois fragmentos Fab ligados por uma ponte bissulfeto na região de dobras; um fragmento Fd tem os domínios VH e CH1; um fragmento Fv tem domínios VL e de VH de um único braço de um anticorpo; e um fragmento dAb tem um domínio de VH, um domínio de VL ou um fragmento de ligação a antígeno de um domínio de VH ou de VL (patente americana US6,846,634; US6,696,245; pedidos de patente americana US 05/0202512, US 04/0202995, US 04/0038291, US 04/0009507, US 03/0039958, Wrad e outros, Nature 341:544 - 546, 1989).

Um anticorpo de cadeia simples (scFv) é um anticorpo em que um VL e uma região de VH são ligadas através de um linker (por exemplo, uma seqüência sintética de resíduos de aminoácido) para formar uma cadeia contínua de proteína onde o linker é suficientemente longo para permitir que a cadeia de proteína se dobre para trás para formar um local de ligação ao antígeno monovalente (ver, por exemplo, Bird e outros, 1988, ciência 242:423 - 26 e Huston e outros, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 85:5879 - 83). Diacorpos são anticorpos bivalentes que compreendem duas cadeias polipeptídicas, onde cada cadeia polipeptídica compreende os domínios VH e VL ligados por um linker que seja demasiadamente curto para permitir a ligação entre dois domínios na mesma cadeia, assim permitindo que cada domínio ligue-se a um domínio complementar em uma outra cadeia polipeptídica (ver, por exemplo, Holliger e outros, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 90:6444 - 48, e Poljak e outros, 1994, Struture 2:1121 - 23). Se as duas cadeias polipeptídicas de um diacorpo forem idênticas, então o diacorpo resultante desta ligação terá dois locais de ligação ao antígeno idênticos. As cadeias polipeptídicas que têm seqüências diferentes podem ser usadas para fazer um

456

diacorpo com os dois locais de ligação ao antígeno diferentes. Similarmente, os tricorpos e os tetracorpos são anticorpos que compreendem três e quatro cadeias polipeptídicas, respectivamente, dando forma a três e quatro locais de ligação ao antígeno, respectivamente, que podem ser os mesmos ou diferentes.

As regiões determinação de complementaridade (CDRs) e regiões da estrutura (FR) de um dado anticorpo que pode ser identificado usando o sistema descrito por Kabat et al. em Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NTH Publication no. 91-3242, 1991. Um ou o mais CDRs pode ser incorporado em uma molécula covalentemente ou não-covalentemente para fazer uma proteína de ligação ao antígeno. Uma proteína de ligação ao antígeno pode incorporar os CDR como parte de uma cadeia maior de polipeptídio, pode covalentemente ligar os CDR a uma outra cadeia de polipeptídio ou pode incorporar os CDR não-covalentemente. Os CDRs permitem que a proteína de ligação ao antígeno possa ligar-se especificamente a um antígeno particular de interesse.

Uma proteína de ligação ao antígeno pode ter um ou mais locais de ligação. Se houver mais de um local de ligação, os locais de ligação podem ser idênticos um ao outro, ou podem ser diferentes. Por exemplo, uma imunoglobulina humana natural tem tipicamente dois locais de ligação idênticos, quando um anticorpo "biespecífico" ou "bifuncional" tiver dois locais de ligação diferentes.

O termo "anticorpo humano" inclui todos os anticorpos que têm uma ou mais regiões variáveis e constante derivadas das seqüências humanas de imunoglobulina. Em uma incorporação, todos os domínios variáveis e constantes são derivados das seqüências humanas da imunoglobulina (um anticorpo inteiramente humano). Estes anticorpos podem ser preparados de diversas maneiras, os exemplos são descritos abaixo, incluindo a imunização de um antígeno de interesse de um rato que seja modificado geneticamente para expressar os anticorpos derivados dos genes que codifica as cadeias pesadas e/ou leves humanas.

Um anticorpo humanizado tem uma seqüência que se difere da seqüência

457

de um anticorpo derivado de uma espécie não-humana por um ou mais aminoácidos substituídos, deletados, e/ou adicionados, de forma que o anticorpo humanizado é menos provável que induza uma resposta imune e/ou induza uma resposta imune menos severa, em relação ao anticorpo não-humano da espécie, quando é administrado a um paciente humano. Em uma incorporação, determinados aminoácidos na estrutura e os domínios constantes das cadeias pesadas e/ou leves do anticorpo não-humano da espécie são mutáveis para produzir o anticorpo humanizado. Em uma outra incorporação, os domínios constantes de um anticorpo humano são fundidos aos domínios variáveis de uma espécie não-humana. Em uma outra incorporação, um ou mais resíduos do aminoácido em uma ou os mais seqüências de CDR de um anticorpo não-humano é modificado para reduzir a provável imunogenicidade do anticorpo não-humano quando é administrado a um paciente humano, onde os resíduos modificados do aminoácido ou não são críticos para a ligação imunoespecífica do anticorpo a seu antígeno, ou as modificações na seqüência do aminoácido que são feitas são mudanças conservadoras, de forma que a ligação do anticorpo humanizado ao antígeno não é significativamente pior do que a ligação do anticorpo não-humano ao antígeno. Os exemplos de como produzir anticorpos humanizados podem ser encontrados nas patentes americanas. US6,054,297; US5,886,152 e US5,877,293.

O termo "anticorpo quimérico" refere-se a um anticorpo que contêm uma ou mais regiões de um anticorpo e uma ou mais regiões de uma ou de outros anticorpos. Em uma incorporação, uma ou mais seqüências de CDRs são derivadas de um anticorpo humano anti-IGF-1R. Em uma outra incorporação, todo os CDRs são derivados de um anticorpo humano anti-IGF-1R. Em uma outra incorporação, os CDRs dos anticorpo humanos de mais de um anti-IGF-1R é misturado e combinado a um anticorpo quimérico. Por exemplo, um anticorpo quimérico pode compreender um CDR1 de cadeia leve de um primeiro anticorpo humano anti-IGF-1R, um CDR2 e um CDR3 de cadeia leve de um segundo anticorpo humano anti-IGF-1R e o CDRs de cadeia pesada de um terceiro

458

anticorpo anti-IGF-1R. Além disso, as regiões da estrutura podem ser derivadas de um mesmo anticorpo anti-IGF-1R, de um ou mais anticorpos diferentes, tais como um anticorpo humano, ou de um anticorpo humanizado. Em um exemplo de um anticorpo quimérico, uma porção da cadeia pesada e/ou leve é idêntica com, homólogos a, ou derivado de um anticorpo de uma espécie particular ou de pertencer a uma classe ou a uma subclasse particular de anticorpo, quando o restante das cadeias são idênticas com, homólogos a, ou derivado de um anticorpo (s) de uma outra espécie ou de pertencer a uma outra classe de anticorpo ou subclasse. São incluídos também os fragmentos de tais anticorpos que exibem a atividade biológica desejada (isto é, a habilidade de ligar especificamente a IGF-IR). Ver, por exemplo, a patente americana US No. 4.816.567 e o Morrison, 1985, Science 229:1202 - 07.

"Um anticorpo neutralizante" ou "um anticorpo inibitório" é um anticorpo que iniba a ligação de IGF-IR a IGF-I e/ou a IGF-2 quando um excesso do anticorpo anti-IGF-1R reduz a quantidade do limite IGF-I e/ou IGF-2 a IGF-IR pelo menos por aproximadamente 20% usando o ensaio descrito no exemplo 9. Em várias incorporações, o anticorpo reduz a quantidade de IGF-1 e/ou de IGF-2 limitado a IGF-IR pelo menos por 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99%, e 99,9%.

"Um anticorpo de ativação" é um anticorpo que ative o IGF-1R pelo menos por aproximadamente 20% quando adicionado a uma célula, a um tecido ou a um organismo expressando IGF-1R, onde "a ativação 100%" é o nível da ativação conseguido sob condições fisiológicas pela mesma quantidade molar de IGF-I e/ou de IGF-2. Em várias incorporações, o anticorpo ativa a atividade de IGF-1R pelo menos por 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 250%, 300%, 350%, 400%, 450%, 500%, 750% ou por 1000 %.

Os fragmentos ou os análogos dos anticorpos podem prontamente ser preparados por um técnico especializado do assunto que segue os ensinamentos deste relatório e que usa técnicas bem conhecidas do estado da técnica. Os fragmentos de amino e carboxi-términal preferidos ou dos análogos ocorrem perto

459

dos limites de domínios funcionais. Os domínios estruturais e funcionais podem ser identificados pela comparação dos dados da seqüência do nucleotídeo e/ou do aminoácido às bases de dados públicas ou de seqüência próprias. Os métodos de comparação computadorizados podem ser usados para identificar a parte principal da seqüência ou os domínios preditos de conformação da proteína que ocorrem em outras proteínas de estrutura e/ou da função conhecidas. Os métodos para identificar as seqüências da proteína que se dobram em uma estrutura tridimensional conhecida são conhecidos. Ver, por exemplo, Bowie et ah, 1991, Science 253:164.

"Um anticorpo enxertado CDR" é um anticorpo que compreende um ou mais CDRs derivados de um anticorpo de uma espécie ou um isotipo particular e a estrutura de um outro anticorpo do mesmo ou a espécie ou o isotipo diferente.

"Um anticorpo multi-específico" é um anticorpo que reconhece mais de um epitopo em um ou mais antígenos. Uma subclasse deste tipo de anticorpo é "um anticorpo bi-específico" que reconhece dois epitopos distintos no mesmo antígeno ou nos antígenos diferentes.

Uma proteína de ligação ao antígeno "liga-se especificamente" a um antígeno (por exemplo, IGF-1R humano) com uma constante de dissociação de 1 nanomolar ou menos.

Um "domínio de ligação ao antígeno", "região de ligação ao antígeno," ou "sítio de ligação ao antígeno" é uma porção de uma proteína de ligação do antígeno que contêm os resíduos do aminoácido (ou outros porções) que interagem com um antígeno e contribui para a especificidade e para a afinidade da proteína de ligação ao antígeno para o antígeno. Para um anticorpo que liga-se especificamente a seu antígeno, isto incluirá pelo menos a parte de pelo menos um de seus domínios CDR.

Um "epitopo" é a porção de uma molécula na qual é limitada por uma proteína de ligação ao antígeno (por exemplo, por um anticorpo). Um epitopo pode compreender partes não-contínuas da molécula (por exemplo, em um polipeptídio, os resíduos do aminoácido que não são contínuos na seqüência preliminar do

polipeptídio, mas que, no contexto do polipeptídio terciário e da estrutura quaternária, estão perto o bastante de cada um para ser limitada por uma proteína de ligação ao antígeno). 460

A "identidade percentual" de dois polipeptídios ou duas seqüências de polinucleotídeos é determinada comparando as seqüências usando o programa de computador GAP (uma parte do pacote de GCG Wisconsin, versão 10.3 (Accelrys, San Diego, o CA)), usando seus parâmetros.

Os termos "polinucleotídeo", "oligonucleotideo" e "ácido nucléico" são usados permutavelmente por toda a parte e incluem as moléculas do DNA (por exemplo, cDNA ou DNA genômico), moléculas de RNA (por exemplo, mRNA), análogos do DNA ou do RNA gerados usando análogos do nucleotídeo (por exemplo, ácidos nucléicos do peptídeo e análogos não- naturais do nucleotídeo), e híbrido destes. A molécula do ácido nucléico pode ser fita única ou dupla-fita. Em uma incorporação, as moléculas do ácido nucléico da invenção compreendem uma estrutura aberta contínua de leitura que codificam um anticorpo, ou um fragmento, um derivado, uma mutação ou uma variante deste, da invenção.

Dois polinucleotídeos de fita simples são "o complemento" de cada uma se suas seqüências puderem ser alinhadas em um orientação anti-paralelo, de forma que cada nucleotídeo em um polinucleotideo é oposto a seu nucleotídeo complementar no outro polinucleotídeo, sem a introdução das aberturas, e sem nucleotídeos não pareados na extremidade 5 ' ou 3 ' de uma ou outra seqüência. Um polinucleotideo é "complementar" a um outro polinucleotídeo se os dois polinucleotídeos puderem hibridizar um ao outro sob estritas condições moderadas. Assim, um polinucleotídeo pode ser complementar a outro polinucleotídeo sem ser seu complemento.

Um "vetor" é um ácido nucléico no qual pode ser usado para introduzir um outro ácido nucléico ligado-se a ele em uma célula. Um tipo de vetor é um "plasmídio", no qual refre-se a uma molécula de DNA de dupla fita circular ou linear em que os segmentos adicionais do ácido nucléico podem ser ligados. Um outro tipo de vetor é um vetor viral (por exemplo, retrovírus de falha de replicação,

adenovírus e vírus adeno-associados), através do qual os segmentos adicionais do DNA podem ser introduzidos no genoma viral. Determinados vetores são capazes de replicação autônoma em uma célula hospedeira na qual são introduzidos (por exemplo, os vetores bacterianos que compreendem uma origem bacteriana de replicação e vetores episomal de mamíferos). Outros vetores (por exemplo, vetores não-episomal de mamíferos) são integrados no genoma de uma célula hospedeira sob introdução na célula hospedeira, e desse modo replicando-se junto com o genoma da célula hospedeira. "Um vetor de expressão" é um tipo de vetor que pode dirigir a expressão de um polinucleotídeo escolhido.

461

Uma seqüência de nucleotídeo está "ligada operativamente" a uma seqüência regulatória se a seqüência regulatória afetar a expressão (por exemplo, o nível, sincronismo ou posição da expressão) da seqüência do nucleotídeo. "Uma seqüência regulatória" é um ácido nucléico que afeta a expressão (por exemplo, o nível, sincronismo, ou posição da expressão) de um ácido nucléico que é ligada operativamente. A seqüência regulatória pode, por exemplo, exercer seus efeitos diretamente no ácido nucléico regulado ou com a ação de uma ou de outras moléculas (por exemplo, os polipeptídios que ligam-se à seqüência regulatória e/ou ao ácido nucléico). Os exemplos de seqüências regulatória incluem promotores, enhancers e outros elementos do controle da expressão (por exemplo, sinais de poliadenilação). Exemplos adicionais de seqüências regulatória são descritos, por exemplo, em Goeddel, 1990, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology (Tecnologia da Expressão Gênica: Métodos em Enzimologia)185, Academic Press, San Diego, CA and Baron et al., 1995, Nucleic Acids Res. 23:3605-06.

"Uma célula hospedeira" é uma célula que pode ser usada para expressar um ácido nucléico, por exemplo, um ácido nucléico da invenção. Uma célula hospedeira pode ser um procarioto, por exemplo, E. coli, ou pode ser um eucarioto, por exemplo, um eucarioto de apenas uma célula (por exemplo, um fermento ou outro fungo), uma celula vegetal (uma célula de planta, por exemplo, tabaco ou de tomate), célula animal (por exemplo, uma célula humana, uma célula

462

de macaco, uma célula de hamster, uma célula de rato, uma célula de camundongo, ou uma célula de inseto) ou um hibridoma. Os exemplos de células hospedeiras incluem a linha COS-7 das células do rim do macaco (ATCC CRL 1651) (ver Gluzman e outros, 1981, Cell 23:175), as células L, C127, as células 3T3 (ATCC CCL 163), as células do ovário do hamster chinês (CHO) ou seus derivados, tais como Veggie CHO e as linhas relacionadas que crescem em meios livre de soro (ver Rasmussen e outros, 1998, Cytotechnology 28:31) ou em tensão DX-BI 1 de CHO, que são deficientes de DHFR (ver Urlaub e outros, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 77:4216 - 20), células HeLa, linhas de células de BHK (ATCC CRL 10), linha de células de CV1/EBNA derivadas da linha CVI de células do rim do macaco verde africano (ATCC CCL 70) (ver McMahan e outros, 1991, EMBO J. 10:2821), células embriogênicas do rim humano, tais como, 293, 293 EBNA ou MSR 293, as células A431 epidermal humanas, as células Colo205 humanas, outras linhas transformadas de células do primata, células diplóides normais, células derivadas da cultura in vitro do tecido preliminar, explantes preliminares, células de HL-60, de U937, de HaK ou de Jurkat. Tipicamente, uma célula hospedeira é uma célula cultivada na qual pode ser transformada ou transfectada com um ácido nucléico codificando um polipeptideo, que pode então ser expresso na célula hospedeira. A frase "célula hospedeira recombinante" pode ser usada para denotar uma célula hospedeira que é transformada ou transfectada por um ácido nucléico a ser expresso. Uma célula hospedeira também pode ser uma célula a qual compreende o ácido nucléico, mas não o expressa em um nível desejado a menos que uma seqüência regulatória for introduzida na célula hospedeira, de forma que se torna funcionalmente ligada ao ácido nucléico. Compreende-se que o termo célula hospedeira, refere-se não somente às células determinadas particularmente, mas à prole ou à potencial prole de tal célula. Porque determinadas modificações podem ocorrer nas sucessivas gerações devido a, por exemplo, mutação ou influência ambiental, tal prole não pode, na verdade, ser idêntica à célula parenteral, mas é incluída ainda dentro do contexto do termo como usado aqui.

463

IGF-1R

IGF-1R é um receptor tirosina quinase transmembrana (Blume- Jensen e outros, 2001, Nature 411: 355 - 65). O IGF-1R humano é sintetizado como um polipeptídio 1367 do precursor do aminoácido que inclue um peptídeo sinal do aminoácido 30 removido durante a translocação no retículo endoplasmático (Suíço-Prot: P08069). O pro-receptor de IGF-1R é glicolisado e clivado por uma protease nas posições 708-711 (que contam o primeiro aminoácido que segue a seqüência do peptídeo sinal) durante a maturação nos eR-golgi tendo por resultado a formação de uma α-cadeia (1-707) e de uma β-cadeia (712-1337) que permanecem ligados por ligações bissulfeto (Bhaumick e outros, 1981, Proc Acad Natl Sci EUA 78:4279 - 83, Chernausek e outros, 1981, Biochemistry 20:7345 - 50, Jacobs e outros, 1983, Proc Acad Natl Sci EUA 80:1228 - 31, LeBon e outros, 1986, Biol Chem 261 de J: 7685-89, Elleman, e outros, 2000, Biochem J 347:771 - 79). O formato predominante do IGF-1R (e de INSR) que existe na superfície da célula é (αβ) um dímero 2 proteoliticamente processado e glicolizado, ligado covalentemente por uma ou mais ligação bissulfeto.

A parte extracelular do IGF-1R consiste na α-cadeia e em 191 aminoácidos da β-cadeia (712-905). O receptor contém uma única transmembrana que mede a seqüência (906-929) e um domínio citoplasmático do resíduo 408 que inclue uma tirosina quinase funcional (Rubin e outros, 1983, nature 305:438 - 440). A análise comparativa da seqüência revelou que o IGF-1R é composto por 11 unidades principais estruturais distintas (reviewed by Adams et al, 2000, Cell Mol Life Sci 57: 1050-93, Marino-Buslje et al, 1998, FEBS Ltrs 441:331-36, Ward et al, 2001, BMC Bioinformatics 2:4). A metade N-terminal do domínio extracelular contém dois domínios homólogos referidos como L1 (1-151) ea L2 (299-461) (Wrad e outros, 2001, supra) separado por uma região rica em cisteina (CR) (152-298) que consiste em diversos módulos estruturais com bissulfetos ligados que alinham-se para repetir as unidades presentes no receptor de TNF e no laminina (Ward e outros, 1995, proteínas 22:141 - 53). A estrutura cristal do domínio L1- CR-L2 foi esclarecida (Garrett e outros, 1998, natureza 394:395 - 99). O domínio L2 é

seguido por três domínios de fibronectina tipo III (Marino-Buslje et al, 1998, supra, Mulhern et al, 1998, Trends Biochem Sci 23:465-66, Ward et al, 1999, Growth Factors 16:315-22). O primeiro domínio de FnIII (FnIII-I, 461-579) é constituído por 118 aminoácidos no comprimento. O segundo domínio de FnIII (FnIII-2, 580-798) interrompido por uma seqüência principal de inserção (ID) de aproximadamente 120 aminoácidos no comprimento. O domínio do ID inclui um local de clivagem da protease de furina que separa as cadeias α e β do receptor maduro. O terceiro domínio de FnIII (FnIII-3) é situado inteiramente na β-cadeia (799-901) que termina diversos resíduos antes da seqüência da transmembrana. O domínio catalítico da tirosina quinase de IGF-1R é situado entre as posições dos aminoácidos 973-1229, e sua estrutura foi esclarecida (Favelyukis et al, 2001, Nature Structural Biol 8: 1058-63, Pautsch et al, 2001, Structure 9:955-65). A quinase é flanqueada por duas regiões regulatórias, a região de justamembrana (930-972) e por uma cauda C-terminal do aminoácido 108 (1220-1337) (Surmacz et al, 1995, Experimental Cell Res 218:370-80, Hongo et al, 1996, Oncogene 12:1231-38). As duas regiões regulatórias contêm os resíduos de tirosina que servem como locais de ancoragem para proteínas de sinal transducional quando fosforiladas pela tirosina quinase ativada do IGF-1R (Reviewed by Baserga (ed.), 1998 The IGF-1 Receptor in Normal and Abnormal Growth, Hormones and Growth Factors in Development and Neoplasia, Wiley-Liss, Inc., Adams et al, 2000, Cell Mol Life Sci 57:1050-93).

A seqüência do aminoácido de IGF-1R é aproximadamente 70% idêntica ao receptor de insulina (INSR; Suíço-Prot: P06213). A homologia mais elevada entre os receptores é situada no domínio da tirosina quinase (84%); a identidade mais baixa está na região do CR e no C-terminal. O IGF-1R é altamente relacionada também (~ 55% idêntico) ao receptor relacionado da insulina (IRR; Suíço-Prot: P 14616).

IGF-1R humano pode ser ativado pela insulina, como fatores de crescimento, IGF-1 e IGF-2 e insulina (INS) (Montes e outros, 1985, pesquisa Pediatric 19:879 - 86). IGF-1 e IGF-2 são genes não-alélicos codificados (Hill et al, 1985, Pediatric Research 19:879-86). IGF-1 and IGF-2 são genes não-alélicos

codificados (Brissenden et al, 1984, Nature 310: 781-8, Bell et al, 1985, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 82: 6450-5), e ambos os genes expressam as proteínas alternativas relacionadas por splicing de RNA diferencial e processamento de proteína. Os formatos maduros mais comuns e bem mais estudados de IGF-1 e de IGF-2 são de respectivamente 70 e 67 aminoácidos de comprimento (Jansen et al, 1983, Nature 306:609-11, Dull et al, 1984, Nature 310: 777-81). Estas proteínas (e suas isoformas) são idênticas, nas posições 11/21, à insulina A-peptídeo e idêntico, nas posições 12/30, à insulina B-peptideo.

IGF-1R é expresso em todas os tipos de células em um animal normal adulto, à exceção dos hepatócitos do fígado e das células β maduras. O plasma sanguíneo humano contêm concentrações elevadas de IGF-1 e de IGF-2, e IGF-1 pode ser detectado na maioria dos tecidos. O receptor é um componente integral do mecanismo de controle fisiológico do tamanho do órgão e homeostasia. Sem ser limitado a uma teoria particular, "a hipótese Somatomedina" indica que o Hormônio de crescimento (GH) mediado ao crescimento somático que ocorre durante a infância e a adolescência é dependente do formato endócrino de IGF-1que é principalmente produzido e secretado pelo fígado (Daughaday, 2000, Nephrology Pediatric 14:537 - 40). A síntese de IGF-1 hepatíco é estimulada pela liberação de GH na hipófise em resposta a GHRH hipotalâmico (hormônio de liberação de GH). A concentração do soro de IGF-1 aumenta sobre a dobra 100 entre idades 5-15 anos em seres humanos. A bioavaliabilidade de IGF-1 é regulado pela proteína de ligação 3 de IGF (IGFBP3) com aproximadamente 99% do fator do crescimento compartimentalizado na região de fronteira. A deficiência primária de IGF-1 dá origem a deleções parciais, e deficiência secundária de IGF-1 resultante de defeitos na produção do GH ou na sinalização, não são letais (Woods, 1999, IGF Deficiency in Contemporary Endocrinology: The IGF System, R. a. R. Rosenfeld, C. Jr. Totowa, ed.s, Humana Press, NJ: 651-74). Os indivíduos afetados exibem um retardamento do crescimento, nascimento, crescimento lento e podem resultar em anomalias do CNS.

A Sinalização de IGF-IR promove o crescimento e a sobrevivência da célula com a ativação da proteína-dependente do adaptador IRS da rota PI3Kinase/Akt. O IGF-1R transmite um sinal a suas estruturas principais, IRS-1 com IRS-4 e proteínas SHE (Blakesley et ah, 1999, *IGF-I receptor function: transducing the IGF-I signal into intracellular events in The IGF System*, R. G. a. R. Rosenfeld, Jr. CT. Totowa, ed.s, Humana Press, NJ: 143-63). Isto resulta na ativação da quinase Ras/Raf/MAP e da quinase PI3/Akt que sinaliza a cascata. Entretanto, a indução da sobrevivência da célula Akt-mediada através do IRS é a rota de resposta dominante da cascata sob estimulação de IGF da maioria das células. Ver figura 10.

466

Proteínas de Ligação a Antígenos

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece proteínas de ligação ao antígeno (por exemplo, anticorpos, fragmentos de anticorpos, derivados de anticorpos, mutações de anticorpos, e variantes de anticorpos), que liga-se a IGF-1R, por exemplo, IGF-1R humano.

As proteínas de ligação ao antígeno, de acordo com a presente invenção, incluem as proteínas de ligação ao antígeno que inibem uma atividade biológica de IGF-1R. Os exemplos de tais atividades biológicas incluem ligar uma molécula de sinalização (por exemplo, IGF-1 e/ou IGF-2), e transdução de um sinal em resposta a ligação da uma molécula de sinalização.

Diferentes proteínas de ligação ao antígeno podem ligar-se aos domínios ou aos diferentes epitopos de IGF-1R ou agir por diferentes mecanismos de ação. Os exemplos incluem, mas não são limitados, as proteínas de ligação ao antígeno que interferem na ligação de IGF-1 e/ou de IGF-2 a IGF-1R ou que inibem a transdução de sinal. O local da ação pode ser, por exemplo, intracelular (por exemplo, interferindo com uma cascata de sinalização intracelular) ou extracelular. Uma proteína de ligação ao antígeno não necessita completamente inibir um IGF-1e/ou uma atividade induzida IGF-2 para encontrar o uso na presente invenção; preferencialmente, as proteínas de ligação ao antígeno que reduzem uma atividade particular de IGF-1 e/ou de IGF-2 são contempladas para o uso também.

(As discussões aqui de mecanismos particulares da ação para proteínas de ligação ao antígeno IGF-1R no tratamento de doenças particulares são somente ilustrativas e os métodos apresentados aqui não são limitados desse modo).

Tem sido observado que ambas IGF-1 e IGF-2 exibem ligação bifásica a IGF-1R. A elevada afinidade da ligação foi relatada para ter um KD na escala de 0,2 nanômetros; a elevada ligação de afinidade, aproximadamente dez dobras maiores. Assim, em uma incorporação, a presente invenção fornece um inibidor de IGF-1R que inibe as afinidades deligação alta e baixa de IGF-1 e/ou de IGF-2 a IGF-R. Tem sido sugerido que a elevada afinidade de ligação, ao invés da baixa afinidade de ligação, de IGF-1 e/ou de IGF-2 a IGF-1R são requeridas para a mudança da conformação que ativa a atividade da tirosina quinase de IGF-1R. Assim, em uma outra incorporação, o inibidor de IGF-1R inibe preferencialmente a elevada afinidade de ligação de IGF-1 e/ou de IGF-2 a IGF-1R em relação à baixa afinidade de ligação.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece as proteínas de ligação ao antígeno que compreendem uma região variável de cadeia leve selecionada do grupo que consiste em L1 a L52 e/ou uma região variável de cadeia pesada selecionada do grupo consistindo de H1 a H52, e os fragmentos, derivados, mutações, e variantes deste (ver figuras 2 e 3). Uma proteínas de ligação ao antígeno pode ser denominada usando a nomenclatura "LxHy", onde "x" corresponde ao número da região variável de cadeia leve e "y" corresponde ao número da região variável de cadeia pesada quando são marcados nas figuras 2 e 3. Por exemplo, L2H1 refere-se a uma proteína de ligação ao antígeno com uma região variável de cadeia leve que compreende a seqüência do aminoácido L2 e uma região variável de cadeia pesada que compreende a seqüência do aminoácido H1, como mostrado nas figuras 2 e 3. As Figuras 2 e 3 indicam também a posição dos CDR e das regiões da estrutura de cada uma destas seqüências de domínios variáveis. As regiões dos CDR de cada cadeia leve e cadeia pesada são agrupadas também pelo tipo e pela similaridade da seqüência nas figuras 4 a 9. As proteínas de ligação ao antígeno da presente invenção

468

incluem, por exemplo, as proteínas de ligação ao antígeno que têm uma combinação da cadeia leve e dos domínios variáveis de cadeia pesadas selecionadas do grupo consistindo nas combinações L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, LIOHIO, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50, L51H51, and L52H52.

Em uma incorporação, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno que compreende um domínio variável de cadeia leve que compreende uma seqüência de aminoácidos que se difere da seqüência de um domínio variável de cadeia leve selecionado do grupo que consiste de L1 até L52 somente nos resíduos 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, ou 1, onde cada diferença da seqüência é independentemente uma deleção, inserção ou substituição de um resíduo do aminoácido. Em uma outra incorporação, o domínio variável de cadeia leve compreende uma seqüência de aminoácidos pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, ou 99% idêntica à seqüência de um domínio variável de cadeia leve selecionado do grupo que consiste de L1 até L52. Em uma outra incorporação, o domínio variável de cadeia leve compreende uma seqüência de aminoácidos que é codificada por uma seqüência de nucleotídeo pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, ou 99% idêntica a uma seqüência do nucleotídeo que codifica um domínio variável de cadeia leve selecionado do grupo que consiste de L1 até L52. Em uma outra incorporação, o domínio variável de cadeia leve compreende uma seqüência de aminoácidos que é codificada por um polinucleotídeo que hibridiza-se sob condições moderadamente estringentess ao complemento de um polinucleotídeo que codifica um domínio variável de cadeia leve selecionado do grupo que consiste de L1 até L52. Em uma outra incorporação, o domínio variável de cadeia leve compreende uma seqüência de aminoácidos que é codificada por um polinucleotídeo que

hibridiza-se sob condições moderadamente estringentess ao complemento de um polinucleotídeo que codifica um domínio variável de cadeia leve selecionado do grupo que consiste de L1 até L52. Em uma outra incorporação, o domínio variável de cadeia leve compreende uma seqüência de aminoácidos que é codificada por um polinucleotídeo que hibridiza-se sob condições moderadamente estringentes a um complemento de um polinucleotídeo de cadeia leve selecionado da figura 1.

Em uma outra incorporação, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno que compreende um domínio variável de cadeia pesada que compreende uma seqüência de aminoácidos que difere-se da seqüência de um domínio variável de cadeia pesada selecionada dos grupos consistindo de H1 a H52 somente nos resíduos 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, ou 1, onde cada diferença da seqüência é independentemente uma deleção, inserção ou substituição de um resíduo do aminoácido. Em uma outra incorporação, o domínio variável de cadeia pesada compreende uma seqüência de aminoácidos que seja pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, ou 99% idêntica à seqüência de um domínio variável de cadeia pesada selecionada dos grupos consistindo de H1 a H52. Em uma outra incorporação, o domínio variável de cadeia pesada compreende uma seqüência de aminoácidos que é codificada por uma seqüência de nucleotídeo pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, ou 99% idêntica a uma seqüência do nucleotídeo que codifica um domínio variável de cadeia pesada selecionado dos grupos consistindo de H1 a H52. Em uma outra incorporação, o domínio variável de cadeia pesada compreende uma seqüência de aminoácidos que é codificada por um polinucleotídeo que hibridiza-se sob condições moderadamente estringentess ao complemento de um polinucleotídeo que codifica um domínio variável de cadeia pesada selecionado dos grupos consistindo de H1 a H52. Em uma outra incorporação, o domínio variável de cadeia pesada compreende uma seqüência de aminoácidos que é codificada por um polinucleotídeo que hibridiza-se sob condições moderadamente estringentess ao complemento de um polinucleotídeo que codifca um domínio variável de cadeia pesada selecionado dos grupos consistindo de H1 a H52. Em uma outra

incorporação, o domínio variável de cadeia pesada compreende uma seqüência de aminoácidos que é codificada por um polinucleotídeo que hibridiza-se sob condições moderadamente estringentess a um complemento de um polinucleotídeo de cadeia pesada selecionado da figura 1.

As incorporações particulares de proteína de ligação ao antígeno da presente invenção compreendem uma ou mais seqüência de aminoácido que são idênticas às seqüências do aminoácido de um ou mais CDRs e/ou FRs ilustrados nas figuras 2 a 9. Em uma incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma seqüência de cadeia leve de CDR1 ilustrada na figura 4. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma seqüência de cadeia leve CDR2 ilustrada na figura 5. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma seqüência de cadeia leve CDR3 ilustrada na figura 6. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma seqüência de cadeia pesada de CDR1 ilustrada na figura 7. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma seqüência de cadeia pesada CDR2 ilustrada na figura 8. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma seqüência de cadeia pesada CDR3 ilustrada na figura 9. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma seqüência de cadeia leve de FR1 ilustrada na figura 2. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma seqüência de cadeia leve FR2 ilustrada na figura 2. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma seqüência de cadeia leve FR3 ilustrada na figura 2. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma seqüência de cadeia leve FR4 ilustrada na figura 2. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma seqüência de cadeia pesada de FR1 ilustrada na figura 3. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma seqüência de cadeia pesada FR2 ilustrada na figura 3. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma seqüência de cadeia pesada FR3 ilustrada na figura 3. Em uma outra

incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende uma seqüência de cadeia pesada FR4 ilustrada na figura 3.

Em uma incorporação, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno que compreende uma ou mais seqüência de CDR que se diferem de um CDR ligado em seqüência mostrado nas figuras 2 a 9 por resíduos de não mais que 5, 4, 3, 2, ou 1 aminoácidos.

Em uma incorporação, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno que compreende pelo menos um CDR de L1-L52 e/ou de H1-H52, como mostrado nas figuras 2 a 9, e pelo menos uma seqüência de CDR de um anticorpo anti-IGF-1R descrito nos pedidos de patente americano US 03/0235582, 04/0228859, 04/0265307, 04/0886503, 05/0008642, 05/0084906, 05/0186203, 05/0244408, publicação do PCT WO 03/059951, WO 03/100008, WO 04/071529A2, WO 04/083248, WO 04/087756, WO 05/016967, WO 05/016970, ou WO 05/058967 (cada qual é incorporado aqui pela referência em sua totalidade para todas as finalidades) pelo qual a proteína de ligação ao antígeno liga-se ao receptor de IGF-1. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende 2, 3, 4, ou 5 seqüências do CDR L1-L52 e/ou H1-H52, como mostrado nas figuras 2 a 9. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende 2, 3, 4, ou 5 seqüências do CDR de um anticorpo anti-IGF-1R descrito nos pedidos de patentes americanas publicados US 03/0235582, 04/0228859, 04/0265307, 04/0886503, 05/0008642, 05/0084906, 05/0186203, 05/0244408, PCT WO 03/059951, WO 03/100008, WO 04/071529 A2, WO 04/083248, WO 04/087756, WO 05/016967, WO 05/016970, ou WO 05/058967. Em uma outra incorporação, pelo menos uma das seqüências de CDR3 da proteína de ligação ao antígeno é uma seqüência CDR3 de L1-L52 e/ou de H1-H52, como mostrado nas figuras 2, 3, 6, e 9. Em uma outra incorporação, a seqüência de cadeia leve CDR3 da proteína de ligação ao antígeno é uma seqüência de cadeia leve CDR3 de L1-L52 como mostrada nas figuras 2 e 6 e a seqüência de cadeia pesada CDR3 da proteína de ligação ao antígeno é uma seqüência de cadeia pesada de H1-H52 como mostrado nas figuras 3 e 9. Em

472

uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno compreende 1, 2, 3, 4, ou 5 seqüências dos CDR que cada uma difere-se independentemente de 6, 5, 4, 3, 2, 1, ou 0 aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados de uma seqüência do CDR de L1-L52 e/ou de H1-H52, e a proteína de ligação ao antígeno ainda compreende 1, 2, 3, 4, ou 5 seqüências do CDR onde cada uma difere-se independentemente por 6, 5, 4, 3, 2, 1, ou 0 aminoácidos adicionados, substituídos, e/ou deletados da seqüência do CDR do publicado nos pedidos de patente americano US 03/0235582, 04/0228859, 04/0265307, 04/0886503, 05/0008642, 05/0084906, 05/0186203, 05/0244408, publicação de PCT, WO 03/059951, WO 03/100008, WO 04/071529A2, WO 04/083248, WO 04/087756, WO 05/016967, WO 05/016970 ou WO 05/058967. Em uma outra incorporação, as seqüências do CDR publicados nos pedidos de patente americanos. No. 03/0235582, 04/0228859, 04/0265307, 04/0886503, 05/0008642, 05/0084906, 05/0186203, 05/0244408, publicação de PCT. No. WO 03/059951, WO 03/100008, WO 04/071529A2, WO 04/083248, WO 04/087756, WO 05/016967, WO 05/016970 ou WO 05/058967.

Em uma outra incorporação, as seqüências do CDR é (são) de anticorpo (s) que liga-se (ligam-se) a porção L2 do domínio extracelular do receptor de IGF-1. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno não compreende uma seqüência de cadeia leve CDR3 e/ou uma seqüência de cadeia pesada CDR3 de um anticorpo anti-IGF-1R publicado nos pedidos de patentes americanas US 03/0235582, 04/0228859, 04/0265307, 04/0886503, 05/0008642, 05/0084906, 05/0186203, 05/0244408, publicação de PCT, WO 03/059951, WO 03/100008, WO 04/071529A2, WO 04/083248, WO 04/087756, WO 05/016967, WO 05/016970 ou WO 05/058967. Em uma incorporação, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno que compreende uma cadeia leve CDR1 que compreende a seqüência $RSSQSLLHXIX_2GYNX_3LX_4$ (NO. SEQ ID: 236), onde X, é uma serina ou um resíduo de treonina, X_2 é uma asparagina, uma serina ou um resíduo de histidina, X_3 é uma tirosina ou um resíduo de fenilalanina e X_4 é um aspartato ou um resíduo de asparagina. Em uma outra incorporação, a cadeia leve

CDR1 compreende a seqüência TRSSGX$_1$IX$_2$X$_3$NYVQ (NO. SEQ ID: 237), onde X$_1$ é uma serina ou um resíduo do aspartato, X$_2$ é uma alanina ou um resíduo do aspartato, e X$_3$ é uma serina ou um resíduo da asparagina. Em uma outra incorporação, a cadeia leve de CDR1 compreende a seqüência RASQX$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$LX$_6$ (NO SEQ ID: 238), onde X$_1$ é uma glicina ou um resíduo de serina, X$_2$ é uma isoleucina, uma valina, ou um resíduo de prolina e X$_3$ é uma serina, uma glicina ou um resíduo de tirosina X$_4$ é qualquer resíduo de aminoácido, X$_5$ é uma fenilalanina, uma tirosina, uma asparagina ou um resíduo de triptofano e X$_6$ é uma alanina ou um resíduo de asparagina. Em uma outra incorporação, X$_2$ é um resíduo de isoleucina ou de valina, X$_3$ é um resíduo de glicina ou de serina, X$_4$ é uma arginina, uma serina, uma asparagina, uma serina, uma tirosina ou um resíduo de isoleucina e X$_5$ é uma fenilalanina ou um resíduo de tirosina.

Em uma incorporação, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno que compreende uma cadeia leve CDR2 que compreende a seqüência LX$_1$X$_2$X$_3$RX$_4$S (NO. SEQ do. ID: 239), onde X$_1$ é uma glicina ou um resíduo de valina, X$_2$ são uma serina ou um resíduo de fenilalanina, X$_3$ é uma asparagina, uma tirosina, ou um resíduo de treonina, e X$_4$ é uma alanina ou um resíduo do aspartato. Em uma outra incorporação, o CDR2 compreende a seqüência AX$_1$SX$_2$LX$_3$S (NO. SEQ do ID: 240), onde X$_1$ é uma alanina ou um resíduo de treonina, X$_2$ é uma treonina ou um resíduo de glicina, e X$_3$ é uma glutamina ou um resíduo de glutamato. Em uma outra incorporação, o CDR2 compreende a seqüência X$_1$X$_2$NX$_3$RPS S (NO. SEQ do ID: 241), pelo qual X$_1$ é um glutamato, uma glutamina, ou um resíduo de glicina, X$_2$ é um resíduo de aspartato ou de lisina, e X$_3$ é qualquer resíduo de aminoácido.

Em uma incorporação, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno que compreende uma cadeia leve CDR3 que compreende a seqüência MX$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$PX$_6$X$_7$ (NO. SEQ ID: 242), pelo qual; X$_1$ é um resíduo de glutamina ou de glutamato, X$_2$ é uma alanina, uma glicina, uma serina, ou um resíduo de treonina, X$_3$ é um resíduo de leucina ou de treonina, X$_4$ é um glutamina, um glutamata, ou um resíduo de histidina, X$_5$ é uma treonina, um triptofano, uma

metionina ou um resíduo de valina, X_6 é um resíduo não polar da cadeia lateral, e X_7 é uma treonina, uma serina, ou um resíduo de alanina. Em uma outra incorporação, o CDR3 compreende a seqüência $QQX_1X_2X_3X_4PX_5T$ (NO. SEQ ID: 243), onde X_1 é uma arginina, uma serina, uma leucina, ou um resíduo da alanina, X_2 são uma asparagina, uma serina, ou um resíduo de histidina, X_3 é uma serina ou um resíduo da asparagina, X_4 é um resíduo não polar de cadeia lateral, e X_5 é uma leucina, uma isoleucina, uma tirosina, ou um resíduo do triptofano. Em uma outra incorporação, o CDR3 compreende a seqüência $QSYX_1SX_2NX_3X_4V$ (NO. SEQ ID: 244), pelo qual X_1 é um aspartato ou um resíduo de glutamina, X_2 são uma serina ou um resíduo do aspartato, X_3 é uma glutamina, uma valina, ou um resíduo de triptofano, e X_4 é um resíduo de arginina ou nenhum resíduo.

Em uma incorporação, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno que compreende uma cadeia pesada CDR1 que compreende a seqüência $X_1X_2X_3WWS$ (NO. SEQ ID: 245), pelo qual X_1 é um resíduo de serina ou nenhum resíduo, X_2 é um resíduo de serina ou de asparagina, e X_3 é um resíduo da asparagina e um resíduo de isoleucina. Em uma outra incorporação, o CDR1 de cadeia pesada compreende a seqüência X_1X_2YWS (NO. SEQ ID: 246), onde X1 é uma glicina, uma asparagina, ou um resíduo de aspartato, e X_2 é um resíduo de tirosina ou de fenilalanina. Em uma outra incorporação, o CDR1 de cadeia pesada compreende a seqüência $SYX_1X_2X_3$ (NO. SEQ do ID: 247), onde X_1 é um resíduo da alanina ou de glicina, X_2 é um resíduo de metionina ou do isoleucina, e X_3 é um resíduo de serina ou de histidina.

Em uma incorporação, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno que compreenda uma cadeia pesada de CDR2 que compreende a seqüência $X_1X_2X_3X_4X_5GX_6TX_7YNPSLX_8S$ (NO. SEQ ID: 248), onde, X_1 é um resíduo de glutamato, uma tirosina, ou de serina, X_2 é um resíduo de isoleucina ou de valina, X_3 é uma tirosina, uma asparagina, ou um resíduo de serina, X_4 é uma histidina, uma tirosina, um aspartato, ou um resíduo de prolina, X_5 é um resíduo de serina ou da arginina, X_6 é um resíduo de serina ou de asparagina, X_7 é um resíduo da asparagina ou de tirosina, e X_8 é um resíduo de lisina ou do glutamato.

Em uma outra incorporação, a cadeia pesada CDR2 compreende a seqüência X_1 $ISX_2X_3X_4X_5X_6X_7YYADSVKG$ (NO. SEQ ID: 249), onde X_1 é uma treonina, uma alanina, uma valina, ou um resíduo de tirosina, X_2 é uma glicina, uma serina, ou um resíduo de tirosina, X_3 é uma serina, uma asparagina, ou um resíduo de aspartato, X_4 é um resíduo de glicina ou de serina, X_5 é uma glicina, uma serina, ou um resíduo de aspartato, X_6 é uma serina, treonina, ou resíduo de asparagina, e X_7 é uma treonina, uma lisina, ou um resíduo de isoleucina.

Em uma incorporação, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno que compreenda uma cadeia pesada CDR3 que compreende a seqüência $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9FDI$ (NO. SEQ do ID: 250), onde X_1 é um resíduo de glutamato ou nenhum resíduo, X_2 é tirosina, glicina, ou resíduo de serina ou nenhum resíduo, X_3 é um serina, asparagina, triptofano, ou resíduo de glutamato, ou nenhum resíduo, X_4 é um serina, aspartato, triptofano, alanina, arginina, treonina, glutamina, leucina, ou resíduo de glutamato, ou nenhum resíduo, X_5 é uma serina, uma glicina, uma asparagina, uma treonina, um triptofano, uma alanina, uma valina, ou um resíduo de isoleucina, X_6 é uma arginina, glutamina, tirosina, valina, alanina, glicina, serina, fenilalanina, ou o resíduo de triptofano, X_7 é uma leucina, asparagina, aspartato, treonina, triptofano, tirosina, valina, alanina, ou um resíduo de histidina, X_8 é um aspartato, uma serina, uma asparagina, ou um resíduo de glutamina, e X_9 é uma alanina ou um resíduo de prolina. Em uma outra incorporação, a cadeia pesada CDR3 compreende a seqüência $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}MDV$ (NO. SEQ ID: 251), onde X_1 é um resíduo da alanina, ou nenhum resíduo, X_2 é um glutamato, tirosina, ou resíduo de glicina, ou nenhum resíduo, X_3 é um resíduo de serina ou de arginina, ou nenhum resíduo, X_4 é um aspartato, glicina, serina, ou resíduo de valina, ou nenhum resíduo, X_5 é uma serina, glicina, ou resíduo de aspartato, ou nenhum resíduo, X_6 é uma glicina, fenilalanina, aspartato, serina, triptofano ou resíduo de tirosina, ou nenhum resíduo, X_7 é uma tirosina, um triptofano, uma serina, ou um resíduo de aspartato, ou nenhum resíduo, X_8 é um aspartato, arginina, serina, glicina, tirosina, ou o resíduo de triptofano, X_9 é uma tirosina, uma isoleucina, uma leucina, uma

476

fenilalanina, ou um resíduo de lisina, X_{10} é uma tirosina, um fenilalanina, um aspartato, ou um resíduo de glicina, e X_{11} é uma glicina, uma tirosina, ou um resíduo de asparagina. Em uma outra incorporação, a cadeia pesada CDR3 compreende a seqüência X_1 $X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}Y$ (NO. SEQ ID: 252), onde X_1 é um resíduo de aspartato ou de valina, ou nenhum resíduo, X_2 é uma glicina, tirosina, arginina, ou resíduo de aspartato, ou nenhum resíduo, X_3 é uma asparagina, leucina, glicina, isoleucina, serina, valina, fenilalanina ou resíduo de tirosina ou nenhum resíduo, X_4 é uma leucina, serina, triptofano, alanina, tirosina, isoleucina, glicina, ou resíduo de aspartato, ou nenhum resíduo, X_5 é um glicina, alanina, tirosina, serina, aspartato ou resíduo de leucina, X_6 é uma valina, uma alanina, uma glicina, uma treonina, uma prolina, uma histidina ou um resíduo de glutamina, X_7 é um glutamato, uma glicina, uma serina, um aspartato, uma glicina, uma valina, um triptofano uma histidina, ou um resíduo de arginina, X_8 é uma glutamina, uma alanina, uma glicina, uma tirosina, uma prolina, uma leucina, um aspartato, ou um resíduo de serina, X_9 é um resíduo não polar de cadeia lateral, e X_{10} é um resíduo de aspartato ou de alanina. Em uma outra incorporação, a cadeia pesada de CDR3 compreende a seqüência $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}YFDX_{11}$ (NO. SEQ ID: 253), onde X_1 é um resíduo de glicina, ou nenhum resíduo, X_2 é um resíduo de prolina ou nenhum resíduo, X_3 é um resíduo de arginina ou de aspartato, ou nenhum resíduo, X_4 é um resíduo de histidina ou de prolina, X_5 é um resíduo de arginina ou de glicina, X_6 é uma arginina, uma serina, ou um resíduo de fenilalanina, X_7 é um resíduo de aspartato ou de serina, X_8 é uma glicina, um triptofano, ou um resíduo de tirosina, X_9 é um resíduo de tirosina ou de alanina, X_{10} é um resíduo de asparagina ou de triptofano, e o X_{11} é um resíduo de asparagina ou de leucina. Em uma outra incorporação, a cadeia pesada CDR3 compreende a seqüência $X_1X_2X_3X_4DSSX_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (NO. SEQ ID: 254), onde X_1 é um resíduo de fenilalanina ou nenhum resíduo, X_2 é um resíduo de asparagina ou de glicina, ou nenhum resíduo, X_3 é uma tirosina ou um resíduo de leucina, ou nenhum resíduo, X_4 é um resíduo de tirosina ou de glicina, ou nenhum resíduo, X_5 é uma glicina, uma serina, ou um resíduo de valina, X_6 é uma tirosina, fenilalanina,

triptofano, ou resíduo de glutamina, ou nenhum resíduo, X_7 é uma tirosina, glicina, ou resíduo de isoleucina ou nenhum resíduo, X_8 é uma tirosina, uma leucina, ou um resíduo de glicina, ou nenhum resíduo, X_9 é uma metionina, uma glicina ou um resíduo de fenilalanina, ou nenhum resíduo, X_{10} é um resíduo de aspartato ou de metiionina, ou nenhum resíduo, X_{11} é uma valina, aspartato ou resíduo de tirosina, ou nenhum resíduo, e X_{12} é um resíduo de valina ou nenhum resíduo.

Em uma incorporação, a presente invenção fornece uma proteína isolada de ligação ao antígeno, compreendendo qualquer um de: a. uma cadeia leve CDR3 que compreende uma seqüência selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência de cadeia leve CDR3 selecionada do grupo que consiste nas seqüências de cadeia leve CDR3 de L1-L52 como mostrado na figura 6; ii. MQALQTPZT; iii. QQ (R/S) (N/S) (S/N) ZPLT; e iv. QSYDSSNXJV; b. uma cadeia pesada CDR3 que compreende uma seqüência selecionada do grupo que consiste de: i. uma seqüência de cadeia pesada CDR3 que difere-se por não mais do que um total de três aminoácidos adicionados, substituídos ou deletados de uma seqüência CDR3 selecionado do grupo que consiste nas seqüências de cadeia pesada CDR3 de H1-H52 como mostrado na figura 9; ii. SRLDAFDI; iii. SXYD YYGMDV; iv. HRXDXAWYFDL; e V. DSSG; ou C. a seqüência de cadeia leve CDR3 de (a) e a seqüência de cadeia pesada CDR3 de (b); onde os símbolos do resíduo do aminoácido incluído nos parênteses identificam resíduos alternativos para a mesma posição em uma seqüência, cada X é independentemente qualquer resíduo do aminoácido, cada Z é independentemente um resíduo de glicina, um resíduo de alanina, um resíduo de valina, um resíduo de leucina, um resíduo de isoleucina, um resíduo de prolina, um resíduo de fenilalanina, um resíduo de metionina, um resíduo de triptofano, ou um resíduo de cisteína, cada J é independentemente um resíduo de glutamina, um resíduo de arginina, um resíduo de valina, ou um resíduo de triptofano, e a proteína de ligação ao antígeno liga-se a IGF-1R humano.

As seqüências do nucleotídeo da figura 1, ou as seqüências do aminoácido das figuras 2 a 9, podem ser alteradas, por exemplo, pela metagênese aleatória ou

478

pela metagênese de local direcionado (por exemplo, metagênese de local-específico direcionado a oligonucleotídeo) para criar um polinucleotídeo alterado que compreende uma ou mais substituições, deleções ou inserções particulares do nucleotídeo em comparação ao polinucleotídeo não-mutante. Os exemplos das técnicas para produzir tais alterações são descritos em Walder et ah, 1986,Gene 42: 133; Bauer et a 1985, Gene 37:73; Craik, BioTechniques, January 1985, 12-19; Smith et ah, 1981, *Genetic Engineering: Principles and Methods*, PlenumPress; e nas patentes americanas US4,518,584 e 4,737,462. Estes e outros métodos podem ser usados para produzir, por exemplo, os derivados dos anticorpos anti-IGF-1R que têm uma propriedade desejada, por exemplo, afinidade aumentada, avidez ou especificidade para IGF-1R, aumento da atividade ou da estabilidade *in vivo* ou *in vitro*, ou redução *in vivo* dos efeitos laterais em comparação ao anticorpo não derivado.

Outros derivados de anticorpos anti- IGF-1R dentro do escopo desta invenção incluem conjugados covalentes ou agregados de anticorpos anti-IGF-1R, ou fragmentos destes, com outras proteínas ou polipeptídios, como através da expressão das proteínas recombinantes de fusão que compreendem os polipeptídios heterólogos fundidos ao N- terminal ou ao C-terminal de um polipeptídio do anticorpo anti IGF-1R. Por exemplo, o peptídeo conjugado pode ser um polipeptídio heterólogo sinal (ou o líder), por exemplo, fator líder alfa de leveduras, ou um peptídeo, tal como, um epitopo Tag. As proteínas de ligação ao antígeno contendo proteínas de fusão podem compreender os peptídeos adicionados para facilitar a purificação ou a identificação da proteína de ligação ao antígeno (por exemplo, poli-His). Uma proteína de ligação ao antígeno também pode ser ligada ao peptidídeo Asp-Tyr-Lys-Asp-Asp-Asp-Asp-Lys da BANDEIRA (DYKDDDDK) (NO. SEQ ID: 255) como descritos por Hopp e outros, Bio/Technology 6:1204, 1988, e na patente americana US5,011,912. O peptídeo FLAG é altamente antigênico e fornece um epitopo reversivelmente limitado por um anticorpo monoclonal específico (niAb), permitindo o ensaio rápido e a fácil purificação da proteína recombinante expressa. Os reagentes utilizados para

preparar as proteínas de fusão no qual o peptídeo FLAG é fundido a um determinado polipeptídio, estão comercialmente disponíveis (Sigma, St. Louis, MO).

Os oligômeros que contêm uma ou mais proteínas de ligação ao antígeno podem ser empregados como antagonistas de IGF-1R. Os oligômeros podem estar no formato de dímeros ligados covalentemente ou ligados não covalentemente, trímeros, ou de oligômeros mais elevados. Os oligômeros que compreendem duas ou mais proteínas de ligação ao antígeno são contemplados para o uso, com por exemplo, é um homodímero. Outros oligômeros incluem heterodímeros, homotrímeros, heterotrímeros, homotetrâmeros, heterotetrâmeros, etc.

Uma incorporação é dirigida aos oligômeros que compreendem múltiplas proteínas de ligação ao antígeno ligado através das interações covalente ou não-covalentes entre aos fragmentos do peptídeo fundido às proteínas de ligação ao antígeno. Tais peptídeos podem ser ligantes do peptídeo (espaçadores), ou peptídeos que têm a propriedade de promover o oligomerização. O zíper de leucina e determinados polipeptídios derivados dos anticorpos estão entre os peptídeos que podem promover a oligomerização das proteínas de ligação ao antígeno unido a este, como descrito mais detalhadamente abaixo.

Em incorporações particulares, os oligômeros compreendem duas a quatro proteínas de ligação ao antígeno. As proteínas de ligação ao antígeno do oligômero podem estar em qualquer formato, tal como algum dos formatos descritos acima, por exemplo, variantes ou fragmentos. Preferivelmente, os oligômeros compreendem as proteínas de ligação ao antígeno que têm atividade de ligação a IGF-1R.

Em uma incorporação, um oligômero é preparado usando os polipeptídios derivados das imunoglobulinas. A preparação das proteínas de fusão que compreendem determinados polipeptídios heterólogos fundidos às várias partes de polipeptídios derivados de anticorpos (incluindo o domínio Fc) foi descrita, por exemplo, por Ashkenazi e outros, 1991, PNAS USA 88:10535; Byrn e outros,

480

1990, Nature 344:677; e Hollenbaugh e outros, 1992 "Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins" (Construção de Proteína de fusão imunoglobulinas), no Current Protocols in Immunology, Suppl. 4, pags. 10.19.1 - 10.19.11.

Uma incorporação da presente invenção é dirigida a um dímero que compreende duas proteínas de fusão criadas fundindo um fragmento de ligação IGF- 1 R de um anticorpo anti- IGF- 1 R à região de Fc de um anticorpo. O dímero pode ser feito pela, por exemplo, inserção de uma fusão do gene que codifica a proteína de fusão em um vetor de expressão apropriado, expressando a fusão do gene nas células hospedeiras transformadas com o vetor recombinante de expressão e permitindo que a proteína expressada da fusão possa ser montada como moléculas de anticorpo, pelo quais as ligações de bissulfeto da cadeia interna formam entre as frações Fc para produzir o dímero.

O termo "polipeptídio Fc" como usado aqui, inclui formas nativa e de mutação dos polipeptídios derivados da região Fc de um anticorpo. Os formatos truncados de tais polipeptídios que contêm a região de dobra que promove a dimerização também são incluídos. As proteínas da fusão que compreendem frações Fc (e os oligômeros formados desta forma) oferecem a vantagem de fácil purificação pela cromatografia de afinidade sobre a proteína A ou as colunas G da proteína.

Um polipeptídio Fc apropriado, descrito no pedido PCT WO 93/10151 (incorporado por este meio pela referência), é um polipeptídio de cadeia única que estende da região da dobra N-terminal para a C- terminal nativo da região Fc de um anticorpo humano de IgGl. Um outro polipeptídio Fc utilizado é a mutação de Fc descrito na patente americana US 5,457,035 e por Baum e outros, 1994, EMBO J. 13:3992 - 4001. A seqüência do aminoácido desta mutação é idêntica àquela da seqüência Fc nativa apresentada em WO 93/10151, a não ser que esse aminoácido 19 seja mudado do Leu para Ala, o aminoácido 20 tenha sido mudado de Leu a Glu, e o aminoácido 22 tenha sido mudado de Gly para Ala. A mutação exibe a afinidade reduzida para os receptores Fc.

481

Em outras incorporações, a parte variável das cadeias pesadas e/ou cadeias leves do anticorpo anti- IGF-1R pode ser substituída pela parte variável de cadeia pesada e/ou leve do anticorpo.

Alternativamente, o oligômero é uma proteína de fusão que compreende múltiplas proteínas de ligação ao antígeno, com ou sem ligantes de peptídeo (espaçador de peptídico). Entre o peptídeo apropriado para os ligantes são aqueles descritos nas patentes americanas US 4,751,180 e 4,935,233.

Um outro método para preparar proteínas oligoméricas de ligação ao antígeno envolve o uso de um zíper de leucina. Os domínios zíper da leucina são peptídeos que promovem a oligomerização das proteínas em que são encontrados. Os zíperes de leucina foram identificados originalmente em diversas proteínas de ligação ao DNA (Landschulz e outros, 1988, Science 240:1759), e têm sido encontrados desde então em uma variedade de proteínas diferentes. Entre os zíperes de leucina conhecidos estão os peptídeos e os derivados naturais deste que dimerizam ou trimerizam. Os exemplos dos domínios zíper de leucina apropriados para produzir proteínas oligoméricas solúveis são descritos na aplicação de PCT WO 94/10308 e o zíper de leucina derivado da proteína D surfactante do pulmão (SPD) descrita em Hoppe e outros, 1994, FEBS Letters 344:191, incorporado por esta referência. O uso de um zíper de leucina modificado o qual permita a trimerização estável de uma proteína heteróloga fundida a este é descrito em Fanslow e outros. , 1994, Semin. Immunol. 6:267 - 78. Em uma aproximação, as proteínas de fusão recombinante que compreendem um fragmento do anticorpo anti-IGF-1R ou o derivado fundido a um peptídeo do zíper de leucina são expressos em células hospedeiras apropriadas e os fragmentos derivados de anticorpos anti-IGF-1R oligoméricos solúveis que se formam são recuperados do sobrenadante da cultura.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece as proteínas de ligação ao antígeno que interferem na ligação de IGF-1 e/ou de IGF-2 a um IGF-1R. Tais proteínas de ligação ao antígeno podem ser feitas de encontro a IGF-1R, ou um fragmento, uma variante ou um derivado deste, e ser selecionadas em ensaios

convencionais para que a habilidade interfira na ligação de IGF-1 e/ou de IGF-2 a IGF-1R. Os exemplos de ensaios apropriados são os protocolos que testam as proteínas de ligação ao antígeno para a habilidade de inibir a ligação de IGF-1 e/ou de IGF-2 às células que expressam IGF-1R, ou que testam proteínas de ligação do antígeno para a habilidade de reduzir uma resposta biológica ou celular que resulta da ligação de IGF-1 e/ou de IGF-2 aos receptores de superfície IGF-1R da célula.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno que obstrua a ligação de IGF-1 e/ou de IGF-2 a IGF-1R, mas não obstrui significativamente a ligação da insulina ao receptor de insulina (INS-R). Em uma incorporação, a proteína de ligação ao antígeno não liga-se a INS-R. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno liga-se ao INS-R com uma afinidade tão baixa que não obstrui eficazmente a ligação da insulina a INS-R. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno liga-se a INS-R, mas a proteína de ligação ao antígeno ligada ao INS-R pode ainda ligar-se a insulina. Em uma outra incorporação, a seletividade da proteína de ligação ao antígeno para IGF-1R é pelo menos 50 vezes maior do que sua seletividade para o receptor de insulina. Em uma outra incorporação, a seletividade da proteína de ligação ao antígeno é 100 vezes maior do que sua seletividade para o receptor de insulina.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece proteína de ligação ao antígeno que demonstre a seletividade da espécie. Em uma incorporação, a proteína de ligação ao antígeno liga-se a um ou mais IGF-1R de mamíferos, por exemplo, a IGF-1R humano e um ou mais IGF-1R do rato, camundongo, cobaia, hamster, gerbil, gato, coelho, cão, cabra, carneiros, vaca, cavalo, camelo e IGF-1R de primata não humano. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno liga-se a um ou mais IGF-1R de primata, por exemplo, a IGF-1R humano e um ou mais IGF-1R de *cynomologous*, marmoset (tipo de macaco), macaco rhesus, e IGF-1R do chimpanzé. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno liga-se especificamente ao IGF-1R humano, de *cynomologous*, de marmoset, de rhesus, ou de chipanzé. Em uma outra

483

incorporação, a proteína de ligação ao antígeno não liga-se a uma ou a mais IGF-1R do rato, camundongos, cobaia, hamster, gerbil, gato, coelho, cão, cabra, carneiros, vaca, cavalo, camelo, e do primata não-humano. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno não liga-se a uma espécie do macaco de mundo novo tal como um marmoset. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno não exibe a ligação específica a nenhuma proteína natural à exceção de IGF-1R. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno não exibe a ligação específica a nenhuma proteína natural à exceção de IGF-1R de mamíferos. Em outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno não exibe a ligação específica a nenhuma proteína natural à exceção do IGF-1R de primata. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno não exibe a ligação específica a nenhuma proteína natural à exceção de IGF-1R humano. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno liga-se especificamente ao IGF-1R de rato, camundongo, macaco *cynomolgus*, e de humano. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno liga – se especificamente ao IGF-1R de rato, camundongo, macaco *cynomolgus*, e de humano com uma afinidade de ligação similar. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno obstrui a ligação de IGF-1 e de IGF-2 humanos com IGF-1R de rato, camundongos, macaco cynomolgus, e de humano. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno obstrui a ligação de IGF-1 e de IGF-2 humanos com IGF-1R de rato; camundongos, macaco cynomolgus e de humano com K similar. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno obstrui a ligação de IGF-1 e de IGF-2 humanos com rato, camundongos, macaco cynomolgus, e de humano com um K; entre aproximadamente 0,57 e aproximadamente 0,61 nM.

Uma maneira para determinar a seletividade de uma proteína de ligação ao antígeno para um IGF-1R usa-se métodos bem conhecidos do estado da técnica e seguindo os ensinos deste relatório. Por exemplo, pode-se determinar a seletividade usando o Westen Blot, FACS, ELISA ou o RIA.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece uma proteína de ligação

484

ao antígeno de IGF-1R (por exemplo, um anticorpo anti-IGF-1R), que tenha uma ou mais das seguintes características: as ligações a IGF-1R humano e de ratos, inibem a ligação de IGF-1 e de IGF-2 a IGF-1R humano, inibem a ligação de IGF-1 e de IGF-2 com IGF-IR de ratos, inibem preferencialmente a elevada ligação da afinidade de IGF-1 e/ou IGF-2 a IGF-1R, ligam-se ao domínio L2 de IGF-1R, causam relativamente pouco a baixo regulamento de IGF-1R expresso na superfície da célula após 17 horas de exposição como em comparação a MAB391 (R&D systems, Minneapolis, MN); por exemplo, uma quantidade de IGF-1R é reduzida por menos de 20%), causa um baixo nível de regulação de IGF-1R expresso na superfície celular em células do tumor de xenoenxertos Colo-205 ou MiaPaCa-2 nos ratos como MAB391 após quatro semanas de dosagem uma vez por semana de 200 microgramas.

Os fragmentos de ligação ao antígeno de proteínas de ligação ao antígeno da invenção podem ser produzidos por técnicas convencionais. Os exemplos de tais fragmentos incluem, mas não são limitados a fragmentos Fab e F $(ab')_2$. Os fragmentos e os derivados do anticorpo produzidos por técnicas da engenharia genética são contemplados também.

As incorporações adicionais incluem os anticorpos quiméricos, por exemplo, versões humanizadas (por exemplo, murinos) de anticorpos monoclonal não-humano. Tais anticorpos humanizados podem ser preparados por técnicas conhecidas, e oferecem a vantagem de imunogenicidade reduzida quando os anticorpos são administrados aos seres humanos. Em uma incorporação, um anticorpo monoclonal humanizado compreende o domínio variável de um anticorpo de murino (todo ou parte do local de ligação do antígeno deste) e um domínio constante derivado de um anticorpo humano. Alternativamente, um fragmento humanizado do anticorpo pode compreender o sítio de ligação ao antígeno de um anticorpo monoclonal de murino e de um fragmento de domínio variável (que faltam o sítio de ligação ao antígeno) derivado de um anticorpo humano. Os procedimentos para a produção de anticorpos monoclonais quiméricos e também projetados incluem aqueles descritos em Riechmann et al, 1988, Nature 332:32[illegible],

485

Liu et al, 1987, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 84:3439, Larrick et al, 1989, Bio/Technology 7:934, e Winter et al, 1993, TIPS 14:139. Em uma incorporação, o anticorpo quimérico é um anticorpo CDR enxertado. Técnicas para imunização de anticorpos são discutidos, por exemplo, no pedido de patente americano US 10/194,975 (publicado me 27 de fevereiro, 2003), US 5,869,619, 5,225,539, 5,821,337, 5,859,205, Padlan et al, 1995, FASEB J. 9:133-39, e Tamura et al, 2000, J. Immunol. 164:1432-41.

Os procedimentos tem sido desenvolvidos para geração de anticorpos humanos ou anticorpos parcialmente humanos em animais não-humanos. Por exemplo, ratos em que um ou os mais genes endógenos de imunoglobulina que tenha sido inativados por vários meios, foram preparados. Os genes da imunoglobulina humana foram introduzidos nos camundongos para substituir os genes inativados do rato. Os anticorpos produzidos no animal incorporam as cadeias de polipeptídio de imunoglobulinas humanas codificadas pelo material genético humano introduzido no animal. Em uma incorporação, um animal não-humano, tal como um rato transgênico, imunizado com um polipeptídio de IGF-1R,de forma que os anticorpos dirigidos de encontro ao polipeptídio de IGF-1R são gerados no animal. Um exemplo de um imunogene apropriado é um IGF-1R de ser humano solúvel, tal como um polipeptídio que compreende o domínio extracelular da proteína da figura 10 ou outro fragmento imunogênico da proteína da figura 10. Os exemplos das técnicas para a produção e uso de animais transgênicos para a produção de anticorpos humanos ou de anticorpos parcialmente humanos são descritos nas patentes americanas US5,814,318, 5,569,825, e 5,545,806, Davis et al, 2003, *Production of human antibodies from transgenic mice in Lo*, ed. Antibody Engineering: Methods and Protocols, Humana Press, NJ:191-200, Kellermann et al, 2002, Curr Opin Biotechnol. 13:593-97, Russel et al, 2000, Infect Immun. 68:1820-26, Gallo et al, 2000, Eur J Immun. 30:534-40, Davis et al, 1999, Cancer Metastasis Rev. 18:421-25, Green, 1999, J Immunol Methods. 231:11-23, Jakobovits, 1998, Advanced Drug Delivery Reviews 31:33-42, Green et al, 1998, J Exp Med. 188:483-95, Jakobovits A, 1998, Exp. Opin. Invest. Drugs. 7:607-14,

Tsuda et al, 1997, Genomics. 42:413-21, Mendez et al, 1997, Nat Genet. 15:146-56, Jakobovits, 1994, Curr Biol. 4:761-63, Arbones et al, 1994, Immunity. 1:247-60, Green et al, 1994, Nat Genet. 7:13-21, Jakobovits et al, 1993, Nature. 362:255-58, Jakobovits et al, 1993, Proc Natl Acad Sci U S A. 90:2551-55. Chen, J., M. Trounstine, F. W. Alt, F. Young, C. Kurahara, J. Loring, D. Huszar. "Immunoglobulin gene rearrangement in B cell deficient mice generated by targeted deletion of the JH locus." International Immunology 5 (1993): 647-656, Choi et al, 1993, Nature Genetics 4: 117-23, Fishwild et al, 1996, Nature Biotechnology 14: 845-51, Harding et al, 1995, Annals of the New York Academy of Sciences, Lonberg et al, 1994, Nature 368: 856-59, Lonberg, 1994, Transgenic Approaches to Human Monoclonal Antibodies in Handbook of Experimental Pharmacology 113: 49-101, Lonberg et al, 1995, Internal Review of Immunology 13: 65-93, Neuberger, 1996, Nature Biotechnology 14: 826, Taylor et al, 1992, Nucleic Acids Research 20: 6287-95, Taylor et al, 1994, International Immunology 6: 579-91, Tomizuka et al, 1997, Nature Genetics 16: 133-43, Tomizuka et al, 2000, Proceedings of the National Academy of Sciences USA 97: 722-27, Tuaillon et al, 1993, Proceedings of the National Academy of Sciences USA 90: 3720-24, and Tuaillon et al, 1994, Journal of Immunology 152: 2912-20.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece os anticorpos monoclonais que ligam-se a IGF-1R. Os anticorpos monoclonais podem ser produzidos usando qualquer técnica conhecida do estado da técnica, por exemplo, imortalizando as células do baço colhidas do animal transgênico após a conclusão da programação de imunização. As células do baço podem ser imortalizadas usando qualquer técnica conhecida do estado da técnica, por exemplo, fundindo com células do mieloma para produzir hibridomas. As células de Mieloma para o uso em procedimentos de produção de hibridoma pela fusão preferivelmente pela produção de não-anticorpos, têm a eficiência de fusão elevada e as deficiências da enzima que rendem a eles a incapacidade de crescimento em determinados meios seletivos que suportam o crescimento somente das células fundidas desejadas (hibridomas). Os exemplos de linhagem de células apropriadas para o

uso em fusões do rato incluem Sp-20, P3-X63/Ag8, P3- X63-Ag8.653, NS1/1.Ag 4 1, Sp210-Agl4, FO, NSO/U, MPC-11, MPC11-X45-GTG 1.7 e S194/5XX0 Bul; os exemplos das linhas da pilha usadas em fusões do rato incluem R210.RCY3, Y3-Ag 1.2.3, IR983F e 4B210. Outras linhagens de célula úteis para fusões celulares são U-266, GM1500-GRG2, LICR-LON-HMy2 e UC729-6.

Em uma incorporação, uma linha de célula de hibridoma é produzida imunizando um animal (por exemplo, um animal transgênico que tem seqüências da imunoglobulina humana) com um imunogene de IGF-1R; colhendo células do baço do animal imunizado; fundindo as células colhidas do baço a uma linhagem celular do mieloma, desse modo gerando células de hibridoma; estabelecendo uma linhagem celular do hibridoma de células do hibridoma, e identificando uma linhagem celular do hibridoma que produza um anticorpo que se ligue ao polipeptídio de IGF-1R. Tais linhas de células do hibridoma e anticorpos monoclonais anti-IGF-1R produziram por elas, são abrangidas pela presente invenção.

Os anticorpos monoclonais secretados por uma linhagem de celular do hibridoma podem ser purificados usando qualquer técnica conhecida do estado da técnica. Os hibridomas ou os mAbs podem também ser selecionados para identificar mAbs com propriedades particulares, tais como a habilidade de obstruir um IGF-1 e/ou uma atividade induzida IGF-2. Os exemplos de tais purificações são fornecidos nos exemplos abaixo.

A evolução molecular das regiões de determinação de complementaridade (CDRs) no centro do sítio de ligação ao anticorpo também foi usada para isolar anticorpos com afinidade aumentada, por exemplo, anticorpos que aumentam a afinidade para c-erbB-2, como descrita por Schier et ah, 1996, J. Mol. Biol. 263:551. Dessa forma, tais técnicas são úteis na preparação dos anticorpos para IGF-1R.

As proteínas de ligação ao antígeno dirigidas contra um IGF-1R podem ser usadas, por exemplo, nos ensaios para detectar a presença de polipeptídios de IGF-1R, *in vitro* ou *in vivo*. As proteínas de ligação ao antígeno também podem ser

empregadas na purificação de proteínas de IGF-1R pela cromatografia de imunoafinidade. Aquelas proteínas de ligação ao antígeno que adicionalmente podem obstruir a ligação de IGF- 1 e/ou de IGF-2 a IGF-1R podem ser usadas para inibir uma atividade biológica se resultante de tal ligação. As proteínas bloqueadoras de ligação ao antígeno podem ser usadas nos métodos da presente invenção. Tais proteínas de ligação ao antígeno que funcionam como antagonistas IGF-1 e/ou IGF-2 podem ser empregadas no tratamento de qualquer condição induzida por IGF-1 e/ou por IGF-2, incluindo, mas não limitadas ao câncer. Em uma incorporação, um anticorpo monoclonal de ser humano anti-IGF-1R gerado pelos procedimentos que envolvem a imunização de ratos transgênicos é empregado no tratamento de tais condições.

488

As proteínas de ligação ao antígeno podem ser empregadas em um procedimento *in vitro* ou *in vivo* administrado de forma a inibir uma atividade biológica de indução de IGF-1 e/ou de IGF-2. As doenças causadas ou exacerbadas (diretamente ou indiretamente) pela interação de IGF-1 e/ou de IGF-2 com a superfície da célula IGF-1R, os exemplos que são fornecidos acima, podem assim ser tratados. Em uma incorporação, a presente invenção fornece um método terapêutico que compreende a administração *in vivo* de um antígeno de obstrução de IGF-1 e/ou de um IGF-2 ligando a proteína a um mamífero caso necessário em uma quantidade eficaz para reduzir a atividade biológica induzida de IGF-1 e/ou de IGF-2.

As proteínas de ligação ao antígeno da invenção incluem um anticorpo monoclonal inteiramente humano ou parcialmente humano que inibem uma atividade biológica de IGF-1 e inibem também uma atividade biológica de IGF-2. Uma incorporação é dirigida a um anticorpo monoclonal humano que obstrua pelo menos parcialmente a ligação de IGF-1 e de IGF-2 a uma célula que expresse IGF-1R humano. Em uma incorporação, os anticorpos são gerados imunizando um rato transgênico com um imunogene de IGF-1R. Em uma outra incorporação, o imunogene é um polipeptídio humano de IGF-1R (por exemplo, um fragmento solúvel que compreende todo ou parte do domínio extracelular IGF-1R). As

linhagens celulares derivadas de Hibridoma de tais ratos imunizados, onde o hibridoma secreta um anticorpo monoclonal que liga-se a IGF-1R, são também fornecidas aqui. 489

Embora os anticorpos humanos, parcialmente humanos ou humanizados sejam apropriados para muitas aplicações, particularmente aqueles que envolvem a administração do anticorpo a um paciente humano, outros tipos de proteínas de ligação ao antígeno poderão apropriados para determinadas aplicações. Os anticorpos não-humanos da invenção podem, por exemplo, ser derivados de qualquer animal que produza anticorpos, tal como o rato, camundongo, o coelho, a cabra, o asno, ou o primata não-humano (tal como o macaco (por exemplo, cynomologous ou rhesus) ou outro tipo macaco (por exemplo, chimpanzé)). Os anticorpos não-humanos da invenção podem ser usados, por exemplo, *in vitro* e as aplicações baseadas na cultura celular, ou qualquer outra aplicação onde uma resposta imune ao anticorpo da invenção não ocorre, são insignificantes, podem ser impedidas, não são de nenhum interesse, nem são desejadas. Em uma incorporação, um anticorpo não-humano da invenção é administrado a um paciente não-humano. Em uma outra incorporação, o anticorpo não-humano não produz uma resposta imune no paciente não-humano. Em uma outra incorporação, o anticorpo não-humano é da mesma espécie que o paciente não-humano, por exemplo, um anticorpo do rato da invenção é administrado a um rato. Um anticorpo de uma espécie particular pode ser feito, por exemplo, imunizando um animal daquela espécie com o imunogene desejado (por exemplo, um polipeptídio solúvel IGF-1R) ou usando um sistema artificial para gerar anticorpos daquela espécie (por exemplo, um sistema bacteriano ou um sistema baseado em fago para gerar anticorpos de uma espécie particular), ou convertendo um anticorpo de uma espécie em um anticorpo de uma outra espécie substituindo, por exemplo, a região constante do anticorpo em uma região constante da outra espécie, ou substituindo um ou mais resíduos do aminoácido do anticorpo de modo que se assemelhe mais à seqüência de um anticorpo da outra espécie. Em uma incorporação, o anticorpo é um anticorpo quimérico que compreende as

seqüências do aminoácido derivadas dos anticorpos de duas ou mais espécies diferentes.

As proteínas de ligação ao antígeno podem ser preparadas por um grande número de técnicas convencionais. Por exemplo, podem ser purificadas das células que naturalmente expressam elas (por exemplo, um anticorpo pode ser purificado de um hibridoma que o produz), ou produzido sistemas de expressão recombinantes, usando alguma técnica conhecida do estado da técnica. Ver, por exemplo, *Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses,* Kennet et al. (eds.), Plenum Press, New York (1980); e *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow and Land (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, (1988).

Qualquer sistema de expressão conhecido do estado da técnica pode ser usado para a produção de polipeptídios recombinantes da invenção. Em geral, as células hospedeiras são transformadas em um vetor de expressão recombinantes que compreende o DNA que codifica um polipeptídio desejado. Entre as células hospedeiras que podem ser empregadas estão as células procarióticas, fungos ou determinadas células eucarióticas mais elevadas. Os procariotos incluem os organismos gran-negativos ou gran-positivos, por exemplo *E. coli* ou Bacilos. As células eucarióticas mais elevadas incluem células do inseto e linhagens estabelecidas da célula de origem mamífera. Os exemplos de linhagens mamíferas apropriadas de célula hospedeira incluem a linhagem celular COS-7 células renais do macaco (ATCC CRL 1651) (Gluzman et al, 1981, Cell 23:175), L celulas L, células 293, células C127, células 3T3 (ATCC CCL 163), células do ovário do hamister chinês (CHO), células HeLa, linhagem celular BHK (ATCC CRL 10) nes, e linhagem celular derivada da linhagem de célula de macaco verde africano CVI/EBNA CVI (ATCC CCL 70) como descrito por McMahan et ah, 1991, EMBO J. 10: 2821. Os vetores de clonagem e de expressão apropriados para o uso com hospedeiros celulares bacterianos, fúngicos, de leveduras, e de mamíferos são descritos por Pouwels e outros. (Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, New York, 1985).

491

As células transformadas podem ser cultivadas sob as condições que promovem a expressão do polipeptídio, e do polipeptídio recuperado por procedimentos convencionais de purificação da proteína. Tal procedimento de purificação inclui o uso de cromatografia de afinidade, por exemplo, sobre uma matriz que tem toda ou uma parte (por exemplo, domínio extracelular) de IGF-IR ligado a ela. Os polipeptídios contemplados para o uso aqui incluem substancialmente polipeptídios de anticorpos anti-IGF-1R de mamíferos recombinantes homogêneos, substancialmente livres de contaminação de materiais endógenos.

As proteínas de ligação ao antígeno podem ser preparadas, e selecionadas para propriedades desejadas, por grande número de técnicas conhecidas. Determinadas técnicas envolvem isolar um ácido nucléico que codifica uma cadeia de polipeptídio (ou porção desta) de uma proteína de ligação ao antígeno de interesse (por exemplo, um anticorpo anti-IGF-1R), e manipular o ácido nucléico com a tecnologia de DNA recombinante. O ácido nucléico pode ser fundido a um outro ácido nucléico de interesse, ou pode ser alterado (por exemplo, pela metagênese ou por outras técnicas convencionais) para adicionar, suprimir, ou substituir um ou mais resíduos de aminoácido, por exemplo.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece fragmentos de ligação a antígenos de um anticorpo anti-IGF-1R da invenção. Tais fragmentos podem consistir inteiramente de seqüências derivadas de anticorpos ou podem compreender seqüências adicionais. Os exemplos de fragmentos de ligação a antígenos incluem Fab, $F(ab')_2$, os anticorpos de cadeia simples, diacorpos, triacorpos, tetracorpos, e domínios de anticorpos. Outros exemplos são fornecidos por Lunde e outros, 2002, Biochem. Soc. Trans. 30:500 - 06.

Os anticorpos de cadeia única podem ser formados ligando fragmentos de domínios variáveis de cadeia pesada e claros (região Fv) através de uma ponte do aminoácido (linker curto de peptidio), tendo por resultado uma única cadeia do polipeptídio. Tal cadeia única Fvs (scFvs) foi preparada fundindo o DNA que codifica um linker do peptídeo entre DNAs que codifica os dois polipeptídios de

492

dominio variáveis (VL e VH). Os polipeptídios resultantes podem dobrar-se para trás para formar monômeros de ligação a antígenos ou podem formar polímeros (por exemplo, dímeros, trímeros, ou tetrâmeros), dependendo do comprimento de um linker flexível entre os dois domínios variáveis (Kortt e outros, 1997, Prot. Inglês. 10:423; Kortt e outros, 2001, Biomol. Inglês. 18:95 - 108). Pela diferente combinação de VL e VH que compreendem polipeptídios, um pode formar os scFvs multiméricos que ligam-se aos diferentes epitopos (Kriangkum e outros, 2001, Biomol. Inglês. 18:31 - 40). As técnicas para a produção de anticorpos de cadeia única incluem aquelas descritas na patente americana US4,946,778; Bird, 1988, Science 242:423; Huston et al, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879; Ward et al, 1989, Nature 334:544, de Graaf et al, 2002, Methods Mol Biol. 178:379-87. Os anticorpos de cadeia única derivaram-se dos anticorpos fornecidos neste e incluem, mas não são limitados a, scFvs que compreendem as combinações de domínios variáveis L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H5O, L51H51, e L52H52) são abrangidos pela presente invenção.

As proteínas de ligação ao antígeno (por exemplo, anticorpos, fragmentos de anticorpos, e derivados de anticorpos) da invenção podem compreender qualquer região constante conhecida do estado da técnica. A região constante de cadeia leve pode ser, por exemplo, uma região constante de cadeia leve do tipo kappa ou lambda , por exemplo, região constante de cadeia leve do tipo kappa ou um lambda humano. A região constante de cadeia pesada pode ser, por exemplo, uma região de cadeia pesada do tipo alfa, delta, epsilon, gama, por exemplo, região de cadeia pesada do tipo alfa, delta, epsilon ou gama humano.

Em uma incorporação, a região constante de cadeia leve ou pesada é um fragmento, um derivado, uma variante, ou uma mutação de uma região constante

493

natural. As técnicas são conhecidas para derivar um anticorpo de uma subclasse ou de um isotipo diferente de um anticorpo de interesse, isto é, subclasse. Assim, os anticorpos de IgG podem ser derivados de um anticorpo de IgM, por exemplo, e vice-versa. Tais técnicas permitem a preparação dos novos anticorpos que possuem as propriedades de ligação ao antígeno de um dado anticorpo (o anticorpo parenteral), mas exibem também as propriedades biológicas associadas a um isotipo ou uma subclasse do anticorpo diferente daquele do anticorpo parenteral. As técnicas de DNA Recombinante podem ser empregadas. O DNA clonado que codifica polipeptídios particulares do anticorpo pode ser empregado em tais procedimentos, por exemplo, DNA que codifica o domínio constante de um anticorpo do isotipo desejado. Ver também Lantto et ah, 2002, métodos Mol. Biol.I78: 303-16.

Em uma incorporação, uma proteína de ligação ao antígeno da invenção compreende o domínio de cadeia pesada de IgGI da figura 13 ou um fragmento do domínio de cadeia pesado de IgGI da figura 13. Em uma outra incorporação, uma proteína de ligação ao antígeno da invenção compreende a região de cadeia constante da cadeia leve kappa da figura 13 ou um fragmento da região constante da cadeia leve do kappa da figura 13. Em uma outra incorporação, uma proteína de ligação ao antígeno da invenção compreende o domínio de cadeia pesada de IgGI, ou um fragmento deste, da figura 13 e o domínio de cadeia leve do kappa, ou um fragmento deste, da figura 13.

Dessa forma, as proteínas de ligação ao antígeno da presente invenção incluem aquelas que compreendem, por exemplo, as combinações de domínios variáveis L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50, L51H51, e L52H52, tendo um isotipo desejado (por exemplo, IgA, IgGI, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgE, e IgD) bem como fragmentos

494

Fab ou F $(ab')_2$ deste. Além disso, se um IgG4 for desejado, pode-se também desejar introduzir um ponto de mutação (CPSCP - > CPPCP) na região da dobra como descrito em Flores e outros, 1997, ciência 6:407 da proteína, (incorporado por esta referência) para aliviar a tendência de formar ligações de cadeia bissulfeto de intra-H que podem conduzir para a heterogeneicidade nos anticorpos IgG4.

Além disso, as técnicas para derivar as proteínas de ligação ao antígeno que têm propriedades diferentes (isto é, variando as afinidades para o antígeno a que se ligam) são conhecidas também. Tal técnica, referida como um embaralhamento de cadeia, envolve indicar repertórios variáveis do gene do domínio da imunoglobulina na superfície do bacteriófago filamentoso, referida freqüentemente como fago de exposição. O embaralhamento de cadeia foi usado para preparar anticorpo de elevada afinidade ao hapteno-2 feniloxazol-5-ona, como descritos por Mark et ah, 1992, biotecnologia, 10:779.

Em incorporações particulares, as proteínas de ligação ao antígeno da presente invenção têm uma afinidade de ligação (Ka) para IGF-1R de pelo menos 10^6, medido como descrito nos exemplos. Em outras incorporações, as proteínas de ligação ao antígeno exibem um Ka de pelo menos 10^7, 10^8, 10^9, ou de pelo menos 10^{10}.

Em uma outra incorporação, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno que possui uma taxa baixa de dissociação de IGF-1R. Em uma incorporação, a proteína de ligação ao antígeno tem um K_{off} de $1x10^{-4}$ s^{-1} ou abaixo. Em uma outra incorporação, o K^{off} é $5x10^{-5}$ s^{-1} ou mais baixo. Em uma outra incorporação, o K_{off} é substancialmente o mesmo que um anticorpo que possui uma combinação de cadeia leve e de seqüências de domínio variável de cadeia pesada selecionadas do grupo de combinações que consistem em L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48,

495

L49H49, L50H50, L51H51, e L52H52. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno liga-se a IGF-1R com substancialmente o mesmo K_{off} que um anticorpo que compreende um ou mais CDRs de um anticorpo que possui uma combinação de seqüências de domínios variáveis de cadeias leves e pesadas selecionadas do grupo de combinações que consistem em L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50, L51H51, e L52H52. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno liga-se a IGF-1R com substancialmente o mesmo K_{off} que um anticorpo que compreende uma das seqüências dos aminoácidos ilustradas nas figuras 2 a 9. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno liga-se a IGF-1R com substancialmente o mesmo K_{off} que um anticorpo que compreende um ou mais CDRs de um anticorpo que compreende uma das seqüências do aminoácido ilustradas nas figuras 2 a 9.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno que liga-se ao domínio L2 de IGF-1R humano. As proteínas de ligação ao antígeno que ligam-se ao domínio L2 podem ser feitas usando qualquer técnica conhecida do estado da técnica. Por exemplo, tais proteínas de ligação ao antígeno podem ser isoladas usando o polipeptídio completo de IGF-1R (por exemplo, na preparação de uma membrana de ligação), um fragmento extracelular solúvel do domínio de IGF-1R (um exemplo é fornecido no exemplo 1), ou um fragmento menor de domínio extracelular de IGF-1R que compreende ou que consiste no domínio L2 (os exemplos são fornecidos no exemplo 10). As proteínas de ligação ao antígeno assim que isoladas podem ser selecionadas para determinar sua especificidade de ligação usando qualquer método conhecido do estado da técnica (um exemplo é fornecido no exemplo 10).

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece uma proteína de ligação

496

ao antígeno que liga-se a IGF-1R humano expresso na superfície de uma célula e, quando assim limitado, inibe IGF-1R que sinaliza a atividade na célula sem causar nenhuma redução significativa na quantidade de IGF-1R na superfície da célula. Qualquer método para determinar ou estimar a quantidade de IGF-1R na superfície e/ou no interior da célula pode ser usado. Em uma incorporação, a presente invenção fornece uma proteína ligação ao antígeno que liga-se ao domínio L2 de um IGF-1R humano expresso na superfície de uma célula e, quando limitado assim, inibe IGF-1R que sinaliza a atividade na célula sem significativamente aumentar a taxa de incorporação do IGF-1R da superfície da célula. Em outras incorporações, a proteína de ligação ao antígeno causa a expressão de IGF-1R menor que aproximadamente 75%, 50%, 40%, 30%, 20%, 15%, 10%, 5%, 1%, ou 0,1% da célula da superfície celular internalizada do IGF-1R. Em um outro aspecto, a proteína ligação ao antígeno à célula expressando IGF-1R causa uma redução gradual na quantidade de IGF-1R na superfície da célula de forma que dentro de algumas horas de contato a célula com a proteína ligação ao antígeno, quase nenhuma diminuição na superfície IGF-IR da célula é detectada, mas, após diversos dias ou semanas de exposição da célula à proteína de ligação ao antígeno, uma diminuição marcada na superfície IGF-1R da célula é detectada.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece uma proteína de ligação ao antígeno que tem uma meia-vida, pelo menos in vitro ou in vivo (por exemplo, quando administrado a um paciente humano). Em uma incorporação, a proteína de ligação ao antígeno tem uma meia-vida de pelo menos três dias. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno tem uma meia-vida de quatro dias ou mais por muito tempo. Em uma outra incorporação, a proteína ligação ao antígeno tem uma meia-vida de oito dias ou mais por muito tempo. Em uma outra incorporação, a proteína ligação ao antígeno é derivada ou modificada de forma que tenha uma meia-vida mais longa em comparação a proteína não derivada ou a proteína ligação ao antígeno não modificada. Em uma outra incorporação, a proteína de ligação ao antígeno contêm um ou mais pontos de mutações para

aumentar a meia vida no soro, tal como descrito no WO 00/09560, publicado em 24 de fevereiro de 2000, incorporado por esta referência.

A presente invenção também fornece as proteínas de ligação ao antígeno multi-específico, por exemplo, proteína ligação ao antígeno bi-específica, por exemplo, proteína ligação ao antígeno que liga-se a dois epitopos diferentes de IGF- 1R, ou a um epitopo de IGF-1R e a um epitopo de uma outra molécula, através de dois sítios de ligação ou de regiões do antígeno diferentes. Além disso, a proteína ligação ao antígeno bi-específica como divulgada aqui, pode compreender um sítio de ligação de IGF-1R de um dos anticorpos descrito aqui e uma segunda região de ligação de IGF-1R de outros anticorpos descritos aqui, incluindo aqueles descritos aqui pela referência a outras publicações. Alternativamente, uma proteína de ligação ao antígeno bi-específica pode compreender um sítio de ligação ao antígeno de um dos anticorpos aqui descritos e um local de ligação ao segundo antígeno de um outro anticorpo de IGF-1R que seja conhecido do estado da técnica, ou de um anticorpo que seja preparado por métodos conhecidos ou por métodos descritos aqui.

Os numerosos métodos de preparação de anticorpos bi-específicos são conhecidos do estado da técnica, e discutidos no pedido de patente americano 09/839.632 depositado em 20 de abril de 2001 (incorporado por esta referência). Tais métodos incluem o uso do hibridoma híbrido como descrito por Milstein et ah, 1983, Nature 305:537, e outra (patentes americanas US4,474,893; US6,106,833), e acoplamento químico de fragmentos de anticorpos (Brennan et α/., 1985, Science 229:81; Glennie et α/, 1987, J. Immunol. 139:2367; patente americana US6,010,902). Além disso, os anticorpos bi-específicos podem ser produzidos através de meios recombinantes, por exemplo usando frações do zíper de leucina (i.e., à partir de "Fos and Jun proteins, which preferentially form heterodimers"; Kostelny et ah, 1992, J. Immnol. 148:1547) ou outras estruturas de domínio interativas "trave e chave" como descritas na patente americana US5,582,996. As técnicas úteis adicionais incluem aquelas descritas em Kortt et ah, 1997, supra; Patente US5,959,083; e na patente US5,807,706.

498

Em um outro aspecto, a proteína de ligação ao antígeno da presente invenção compreende um derivado de um anticorpo. O anticorpo derivado pode compreender qualquer molécula ou substância que transmitem uma propriedade desejada ao anticorpo, assim como aumentam a meia vida em uso particular. O anticorpo derivado pode compreender, um meio detectável (ou marcado), (por exemplo, uma molécula antigênica, enzimática, radioativa ou colorimétrica, uma partícula detectável (tal como uma partícula magnética ou eletrodensa (por exemplo, ouro)), ou uma molécula que se ligue a uma outra molécula (por exemplo, biotina ou o estreptavidina)), um meio diagnóstico ou terapêutico (por exemplo, um meio radioativo, citotóxico, ou farmaceuticamente ativo), ou uma molécula que aumente a adequação do anticorpo para uso particular (por exemplo, administração a um paciente, tal como um paciente humano, ou outro uso *in vivo* ou *in vitro*). Os exemplos das moléculas que podem ser usadas de um anticorpo derivado incluem a albumina (por exemplo, albumina do soro humana) e o polietileno glicol (PEG). Os derivativos de anticorpos ligados a albumina e derivativos de PEG podem ser preparados usando técnicas bem conhecida do estado da técnica. Em uma incorporação, o anticorpo conjugado pode ser tanto ligado de outra maneira ao transtirretina (TTR) ou a um variante de TTR. O variante de TTR ou de TTR pode ser quimicamente modificado com, por exemplo, um produto químico selecionado do dextran consistindo do grupo poli (piurrolidona n-vinil), polietileno glicóis, homopolímeros propropileno glicoís, co-polímeros do óxido de polipropilene/óxido de etileno, polioxietilatado polióis e álcoois polivinis. Pedido de patente americano US 2003/0,195,154.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece métodos para selecionar uma molécula que se liga a IGF-1R usando as proteínas de ligação ao antígeno da presente invenção. Qualquer técnica apropriada de seleção pode ser usada. Em uma incorporação, uma molécula de IGF-1R, ou um fragmento deste a qual uma proteína de ligação ao antígeno da presente invenção se liga, é contatada com a proteína de ligação ao antígeno da invenção e com uma outra molécula, onde a outra molécula liga-se a IGF-1R se esta reduzir a proteína de ligação ao antígeno

499

a IGF-IR. A proteína de ligação ao antígeno pode ser detectada usando qualquer método apropriado, por exemplo, ELISA. A detecção da proteína de ligação ao antígeno a IGF-1R pode detectavelmente ser simplificada marcando a proteína de ligação ao antígeno, como discutido acima. Em uma outra incorporação, a molécula de ligação ao IGF-1R é analisada também para determinar se esta inibe os mediadores de sinalização IGF-1R, IGF-1, e/ou IGF-2.

Ácidos Nucléicos

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece moléculas isoladas de ácido nucléico. Os ácidos nucléicos compreendem, por exemplo, os polinucleotídeos que codificam toda ou parte de uma proteína de ligação ao antígeno, por exemplo, uma ou ambas cadeias de um anticorpo da invenção, ou um fragmento, um derivado, uma mutação, ou um variante deste, os polinucleotídeos suficientes para o uso como sondas de hibridização, primers de PCR ou primers de seqüência para identificar, analisar, mutar ou amplificar um polinucleotídeo que codifica um polipeptídio, ácidos nucléicos anti-senso para a inibição da expressão de um polinucleotídeo e seqüências complementares do antecedente. Os ácidos nucléicos podem ser de qualquer comprimento. Podem ser, por exemplo, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 750, 1.000, 1.500, 3.000, 5.000 ou mais nucleotídeos no comprimento, e/ou podem compreender uma ou mais seqüências adicionais, por exemplo, seqüências regulatórias, e/ou fazer parte de um ácido nucléico maior, por exemplo, um vetor. Os ácidos nucléicos podem de fita simples ou fita dupla e podem compreender RNA e/ou DNA, e variantes artificiais deste nucleotídeos (por exemplo, ácidos nucléicos do peptídeo).

Os ácidos nucléicos que codificam polipeptídios do anticorpo (por exemplo, cadeia pesada ou leve, somente domínio variável ou comprimento total) podem ser isolados das células B dos ratos que foram imunizados com IGF-1R. O ácido nucléico pode ser isolado por procedimentos convencionais tais como a reação em cadeia da polimerase (PCR).

A Figura 1 fornece as seqüências do ácido nucléico que codificam as

regiões variáveis das cadeias pesadas e regiões variáveis de cadeia leve mostradas nas figuras 2 e 3. O profissional especializado no assunto compreenderá que, devido a degeneração do código genético, cada uma das seqüências do polipeptídio nas figuras 2 a 9 são codificadas também por um grande número de outras seqüências do ácido nucléico. A presente invenção fornece cada seqüência degenerativa do nucleotídeo que codifica cada proteína de ligação ao antígeno da invenção.

A presente invenção também fornece os ácidos nucléicos que hibridizam-se a outros ácidos nucléicos (por exemplo, ácidos nucléicos que compreendem uma seqüência do nucleotídeo da figura 1) sob condiçõess particulares de hibridização. Os métodos para hibridização dos ácidos nucléicos são bem conhecidos do estado da técnica. Ver, por exemplo, protocolos atuais na biologia Molecular, no John Wiley & Soons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Como aqui definida, uma condição estrita mente moderada de hibridização usa uma solução pré-lavagem que contêm cloreto de sódio 5Xcitrato de sódio (SSC), 0.5% SDS, 1.0 ml de EDTA (pH 8.0), tampão de hibridização formamida de aproximadamente 50%, 6X SSC, e uma temperatura de hibridização à 55° C (ou outras soluções similares de hibridização, tais como uma a que contêm a formamida de aproximadamente 50%, com uma temperatura de hibridização à 42° C), e condições de lavagem à 60° C, em 0.5X SSC, 0.1% SDS. Uma condição estrita de hibridização hibridiza em 6X SSC à 45° C, seguido por uma ou mais lavagens de 0,1X SSC, 0,2% SDS à 68° C. Além disso, uma pessoa habilitada no assunto pode manipular as condições de hibridização e/ou de lavagem para aumentar ou diminuir a estringência da hibridização de forma que os ácidos nucléicos que compreendem as seqüências do nucleotídeo que são pelo menos 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98 ou o 99% idênticos entre si, permanecem tipicamente hibridizados entre si. Os parâmetros básicos que afetam a escolha de condições e de orientação da hibridização para planejar condições apropriadas são determinados, por exemplo, Sambrook, Fritsch, e Maniatis (1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., capítulos 9 e11; e Current

SO1

Protocols in Molecular Biology, 1995, Ausubel et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., seções 2.10 e 6.3-6.4), e podem prontamente ser determinados por um técnico especializado no assunto baseada sobre, por exemplo, no comprimento e/ou na composição da base do DNA.

As mudanças podem ser introduzidas através da mutação de um ácido nucléico, conduzindo desse modo à mudanças na seqüência do aminoácido de um polipeptídio (por exemplo, uma proteína de ligação ao antígeno) que este codifica. As mutações podem ser introduzidas usando qualquer técnica conhecida do estado da técnica. Em uma incorporação, um ou mais resíduos particulares do aminoácido é trocado usando, por exemplo, um protocolo sítio-dirigido a metagênese. Em uma outra incorporação, um ou mais resíduos aleatoriamente selecionados é trocado usando, por exemplo, um protocolo aleatório de metagênese. Porém é feito, um polipeptídio mutante que pode ser expresso e selecionado para uma propriedade desejada (por exemplo, ligar-se a IGF-1R ou obstruir a ligação de IGF-1 e/ou de IGF-2 a IGF-1R).

As mutações podem ser introduzidas em um ácido nucléico sem alterar significativamente a atividade biológica de um polipeptídio que este codifique. Por exemplo, um pode produzir as substituições do nucleotídeo que conduzem às substituições do aminoácido em resíduos de aminoácido não essencial. Em uma incorporação, uma seqüência do nucleotídeo fornecida na figura 1, ou um fragmento, uma variante, ou um derivado desejado deste, são mutáveis de forma que codifique uma seqüência do aminoácido que compreende uma ou mais deleções ou substituições dos resíduos de aminoácidos que são mostrados nas figuras 2 a 9 que são resíduos onde duas ou mais seqüências diferem. Em uma outra incorporação, a metagênese introduz um aminoácido junto a um ou mais resíduos de aminoácidos mostrado nas figuras 2 a 9 que são resíduos onde duas ou os mais seqüências diferem. Alternativamente, uma ou mais mutações podem ser introduzidas em um ácido nucléico que mudam seletivamente a atividade biológica (por exemplo, ligação e/ou inibição de IGF-1R, IGF-1, IGF-2 etc.) de um polipeptídio que este codifique. Por exèmplo, a mutação pode quantitativamente

502

ou qualitativamente mudar a atividade biológica. Os exemplos de mudanças quantitativas incluem o aumento, redução ou eliminação da atividade. Os exemplos de mudanças qualitativas incluem a mudança da especificidade do antígeno de uma proteína de ligação ao antígeno.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece moléculas do ácido nucléico que são apropriadas para o uso como primers ou sonda de hibridização para a detecção de seqüências do ácido nucléico da invenção. Uma molécula do ácido nucléico da invenção pode compreender somente uma parte de uma seqüência do ácido nucléico que codifica um polipeptídio inteiro da invenção, por exemplo, um fragmento que possa ser usado como uma sonda, um primer ou um fragmento que codifica uma parte ativa (por exemplo, uma parte de ligação de IGF-1R) de um polipeptídio da invenção.

As sondas baseadas na seqüência de um ácido nucléico da invenção podem ser usadas para detectar o ácido nucléico ou os ácidos nucléicos similares, por exemplo, transcrições que codificam um polipeptídio da invenção. A sonda pode compreender um grupo de marcadores, por exemplo, um radioisótopo, um composto fluorescente, uma enzima ou um fator de co-enzima. Tais sondas podem ser usadas para identificar uma célula que expresse o polipeptídio.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece vetores que compreendem um ácido nucléico que codifica um polipeptídio da invenção ou parte deste. Os exemplos dos vetores incluem, mas não são limitados a, plasmídios, vetores viral, vetores de mamíferos não-episomais e vetores de expressão, por exemplo, vetores de expressão recombinantes.

Os vetores de expressão recombinantes da invenção podem compreender um ácido nucléico da invenção em um formato apropriado para a expressão do ácido nucléico em uma célula hospedeira. Os vetores de expressão recombinantes incluem uma ou mais seqüências regulatórias, selecionadas com base nas células hospedeiras para ser usadas para a expressão, que são ligadas operativamente à seqüência do ácido nucléico a ser expressa. As seqüências regulatórias incluem aquelas que direcionam a expressão constitutiva de uma seqüência do nucleotídeo

503

em muitos tipos de células hospedeiras (por exemplo, promoter gene enhancer SV40, do promoter do sarcoma vírus Rous e promoter do *cytomegalovirus*), aqueles de expressão direta da seqüência do nucleotídeo somente em determinadas células hospedeiras (por exemplo, tissue-specific regulatory sequences, in Voss et al, 1986, Trends Biochem. Sci. 11:287, Maniatis et al., 1987, Science 236:1237, incorporado por esta referência em suas totalidade), e naquelas que dirigem a expressão induzidas de uma seqüência do nucleotídeo em resposta ao tratamento ou à condição particular (por exemplo, promoter de metalotionina em células mamíferas e na tet-resposta e/ou promoter de resposta da estreptomicina em sistemas procarióticos e eucarióticos (ver id). Será compreendido por um técnico especializado no assunto que o projeto do vetor da expressão pode depender de fatores como a escolha da célula hospedeira a ser transformada, o nível da expressão da proteína desejada, etc. Os vetores de expressão da invenção podem ser introduzidos em células hospedeiras para produzir desse modo proteínas ou peptídeos, incluindo as proteínas de fusão ou os peptídeos, codificadas por ácidos nucléicos como descritos aqui.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece células hospedeiras em que um vetor de expressão recombinante da invenção foi introduzido. Uma célula hospedeira pode ser qualquer célula procariótica (por exemplo, *E. coli*) ou célula eucariótica (por exemplo, fungo, inseto, ou células de mamíferos (por exemplo, células CHO)). O DNA do vetor pode ser introduzido em células procarióticas ou eucarióticas através de técnicas convencionais da transformação ou do transfecção. Para a transfecção estável de células de mamíferos, sabe-se que, dependendo do vetor de expressão e técnica de transfecção usada, apenas uma pequena fração das células pode integrar o DNA estrangeiro em seu genoma. A fim de identificar e selecionar estes integrantes, um gene que codifica um marcador selecionável (por exemplo, como resistência à antibióticos) é introduzido geralmente nas células hospedeiras junto com o gene de interesse. Os marcadores selecionáveis preferidos incluem aqueles que conferem resistência às drogas, tais como G418, higromicina e metotrexato. As células transfectadas

504

estavelmente com o ácido nucléico introduzido podem ser identificadas pela seleção da droga (por exemplo, as células que incorporaram o gene do marcador selecionável sobreviverão, enquanto as outras células morrerão), entre outros métodos.

Indicações

Em um aspecto, a presente invenção fornece métodos de tratamento de um paciente. O método pode, por exemplo, ter um efeito geralmente saudável no paciente, por exemplo, pode aumentar a longevidade prevista ao paciente. Alternativamente, o método pode, por exemplo, tratar, impedir, curar, aliviar, ou melhorar ("tratar") uma doença, uma desordem, uma condição, ou uma doença ("uma condição"). Entre as condições a serem tratadas de acordo com a presente invenção estão as condições caracterizadas pela expressão ou pela atividade imprópria de IGF-1, de IGF-2, e/ou de IGF-1R. Em algumas tais condições, o nível de expressão ou de atividade é demasiadamente elevado, e o tratamento compreende a administração de um antagonista de IGF-1R como aqui descrita. Em outras tais condições o nível de expressão ou de atividade é demasiadamente baixo, e o tratamento compreende a administração de um agonista de IGF-1R como descrito aqui.

Um exemplo de um tipo de condição que possa ser tratado usando os métodos e as composições da presente invenção é uma condição que envolva o crescimento celular, por exemplo, uma condição cancerosa. Assim, em uma incorporação, a presente invenção fornece composições e métodos de tratamento de uma condição cancerosa. A condição cancerosa pode ser qualquer condição cancerosa que possa ser tratada usando as composições compreendidas aqui, por exemplo, proteínas de ligação ao antígeno de IGF-1R antagonizantes, tais como anticorpos anti-IGF-1R, fragmentos de anticorpos, ou derivados de anticorpos. Exemplos de condições cancerosas incluem, por exemplo, leucemia linfoblástica aguda, carcinoma adrenocortical, câncer relacionado a AIDS, linfoma relacionado a AIDS, câncer anal, astrocitoma cerebelar de infância, astrocitoma cerebral da infância, carcinoma basal celular, câncer do ducto biliar extrahepático, câncer da

505

bexiga, osteosarcoma/câncer fibroso maligno do osso de histiocitoma, tumores do cérebro (por exemplo, glioma da haste do cérebro, astrocitoma cerebelar, astrocitoma cerebral/glioma malígno, ependimoma, meduloblastoma, tumores primários supratentorial neuroectodermal, cascata visual e glioma hipotalâmico), câncer de mama, adenomas bronquial/carcinóides, linfoma de Burkitt, tumor carcinóide, tumor carcinóide gastrointestinal, carcinoma primário desconhecido, carcinoma do sistema nervoso central primário, astrocitoma cerebelar, astrocitoma cerebral/glioma malígno, câncer cervical, câncer da infância, leucemia linfocítica crônica, leucemia mielogênica crônica, desordens mieloproliferativas crônicas, câncer de cólon, câncer coloretal, linfoma citâneo da célula-T, câncer endometrial, ependimoma, câncer esofageal, tumores da família "Ewing", tumor da célula germinativa extracranial, tumor da célula germinativa extragonadal, câncer do ducto da bile extrahepático, câncer de melanoma intraocular, Retinoblastoma, câncer de Gallbladder, câncer gástrico (do estômago), tumor carcinóide gastrointestinal, tumores da células germinativas (por exemplo, extracranial, extragonadal, e ovariano), tumor gestacional trofoblástico, glioma (por exemplo, adulto, haste do cérebro infantil, astrocitoma cerebral infantil, rota visual e hipotalâmico da infância), leucemia das células capilares, da cabeça e da garganta, câncer hepatocelular (do fígado), linfoma de Hodgkin, câncer hipofaringeal, glioma hipotalãmico e da rota visual, melanoma intraocular, carcinoma de ilhotas celulares (pâncreas endócrino), sarcoma de Kaposi, câncer do fígado (renal), câncer laringeal, câncer mielogênico linfocítico, leucemia miolóide crônica, leucemia crônica (por exemplo, linfoblástica aguda, aguda, e de células capilares), da extremidade e da cavidade oral, câncer do fígado, câncer de células não pequenas do pulmão, câncer de células pequenas do pulmão, linfoma (por exemplo, relacionado a AIDS, de Burkitt, cutâneo, de Hodgkin, Não-Hodgkin, e sistema nervoso central primário), macroglobulinemia de Waldenstrom, histiocitoma fibroso maligno do osso/osteosarcoma, meduloblastoma, melanoma, melanoma intra-ocular (do olho), carcinoma celular de Merkel, mesotelioma, câncer da garganta metastático escamoso com síndrome preliminar, neoplasia

506

endócrina múltipla ocular, mieloma múltiplo/neoplasma celular plasmático, micoses fungóides, síndromes de mielodisplasia, doenças de Mielodisplástica/Mieloproliferativa, leucemia mielogenosa, leucemia mielóide crônica, mieloma múltiplo, desordens crônicas mieloproliferativas, cavidade nasal e câncer do sinus paranasal, câncer nasofaringeal, neuroblastoma, câncer oral, câncer orofaringeal, osteosarcoma/histiocitoma fibrose máligna do osso, câncer ovariano, câncer epitelial ovariano, tumor ovariano das células da germinativas, tumor ovariano de baixo potencial maligno, câncer pancreático, câncer da ilhota celular pancreático, câncer do sinus paranasal e da cavidade nasal, câncer da paratiróide, câncer "Penile", feocromocitoma, pineoblastoma, tumor da hipófise, neoplasma celular plasmático/mieloma múltiplo, blastoma pleuropulmonariano, linfoma preliminar do sistema nervoso central, câncer da próstata, câncer retal, câncer de célula renal (rim), câncer da pélvis renal e câncer de células transitórias do ureter, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, câncer da glândula salivar, sarcoma do tecido mole, sarcoma uterino, síndrome "Sezary", câncer de pele não-melanoma, carcinoma da pele celular de Merkel, câncer do Intestino pequeno, sarcoma do tecido mole, carcinoma celular escamoso, linfoma cutâneo de células T, câncer testicular, timoma, carcinoma tímico, câncer da tireóide, tumor gestacional trofoblástico, carcinoma de local primário desconhecido, câncer uretral, câncer uterino endometrial, sarcoma uterino, câncer vaginal, glioma visual, câncer vulvar, macroglobulinemia de Waldenstrom e tumor hipotalâmico de Wilms.

Quatro grupos diferentes estudaram um total de 425 cânceres de mama, na maior parte de origem ductal e 48 tecidos normais ou espécimes benignas por radioimunoensaio ("RIA") ou ("IHC") (Papa et al, 1993, Cancer Research 53: 3736-40, Happerfield et al, 1997, Journal of Pathology 183: 412- 17; Ellis et al, 1998, Breast Cancer Research & Treatment 52: 175-84, Lee et al, 1998, Breast Cancer Research & Treatment 47: 295-302, Schnarr et al, 2000, International Journal of Cancer 89: 506-13). Estes estudos sugerem que a expressão elevada de IGF-1R, na ordem da dobra 5-10, está associada com o prognóstico favorável e os biomarcadores (ER+ PR+), sugerindo que o estrógeno e IGF cooperam na

S07

manutenção ou na progressão do tumor bem diferenciado. Similarmente, o estrogênio foi mostrado para ser essencial para o crescimento e a sobrevivência da linhagem celular de câncer de mama de ER+ MCF-7, e neste contexto IGF-1R é regulado acima pelo tratamento do estrogênio (reviewed in Ellis et al, 1998, Breast Cancer Research & Treatment 52: 175-84). Assim, em uma incorporação, a presente invenção fornece um método de tratar o câncer de mama em um paciente na necessidade de tal tratamento, compreendendo a administração ao paciente uma quantidade eficaz de um antagonista IGF- 1R como descrita aqui. Em uma outra incorporação, o método também compreende a administração de um inibidor do hormônio, por exemplo, um inibidor de estrogênio.

Uma análise retrospectiva de IGF-1R por IHC foi relatada para uma coleção de 12 adenomas do cólon, 36 adenocarcinomas coloretais preliminares e 27 metástases correspondentes e 34 tecidos normais adjacentes (Hakam e outros, 1999, Pathology humano. 30:1128 - 33). A freqüência de moderada a forte de mancha IHC pareceu aumentar dramaticamente com estágio e grau mais elevado do tumor (normal de 0% contra metástases de 93%). Os resultados são consistentes com a análise do RNA pelo ensaio da proteção de RNAse ("RPA") (Freier e outros, 1999, pelo Gut 44:704 - 08). Assim, em uma incorporação, a presente invenção fornece um método de tratar o câncer de cólon em um paciente na necessidade de tal tratamento, compreendendo a administração ao paciente de uma quantidade eficaz de um antagonista IGF-1R como descrita aqui.

O plasma elevado de IGF-1 e IGFbp3 reduzido nos homens de 40-80 anos é associado com o risco aumentado do câncer de próstata (Chan e outros, 1998, ciência 279:563 - 6). IGF-1 elevado é associado com um risco de outros cânceres incluindo, o de mama (Hankinson e outros, 1998, Lancet 351: 1393-96), de cólon (Ma et al, 1999, Journal of the National Cancer Institute 91: 620-25) e de pulmão (Yu et al, 1999, Journal of the National Cancer Institute 91: 151-56). Em modelos de ratos transgênico, a incidência do tumor é aumentada pela superexpressão de IGF-1 em posições diversas (Bol et al, 1997, Oncogene 14: 1725-34; DiGiovanni et al, 2000, Cancer Research 60: 1561-70; DiGiovanni et al, 2000, Proceedings of the

S308

National Academy of Sciences of the United States of America 97: 3455-60, Hadsell et al, 2000, Oncogene 19: 889-98). Estes estudos do rato apontam a um papel para ambos IGF-1 produzido pelo estroma e pelo soro. Assim, em uma incorporação, a presente invenção fornece um método de tratar um paciente na necessidade de tal tratamento, compreendendo administração ao paciente uma quantidade eficaz de um antagonista de IGF-1R como descrita aqui, onde o antagonista inibe a ativação de IGF-1R por IGF-1. Em uma outra incorporação, o paciente tem o câncer. Em uma outra incorporação, o paciente tem um tumor. Em uma outra incorporação, o câncer é câncer da próstata, de mama, de cólon ou de pulmão.

Observou-se que o osso é a fonte principal de IGF-1 no corpo. Assim, em um aspecto, a presente invenção fornece composições e métodos inibindo IGF-1R em um osso de um paciente. Em uma incorporação, um inibidor de IGF-1R da presente invenção é administrado a um paciente que tenha, ou está em risco tornando-se, um tumor de osso. O tumor pode ser, por exemplo, um tumor preliminar ou um tumor metastático. O tratamento promove opcionalmente a administração a um paciente ou mais tratamento terapêutico e/ou paliativos adicionais, por exemplo, um tratamento anti-tumor (por exemplo, quimioterapia, terapia de radiação, ou terapia do anti-hormônio) ou um tratamento que iniba o turnover do osso (por exemplo, denosumab (Amgen Inc., Thousand Oaks, CA)).

IGF-2 é superexpresso em uma variedade de tumores e de tecidos estrômicos. Os níveis IGF-2 parecem especialmente elevados (tanto quanto a dobra 40) em cânceres preliminares do fígado (Cariani e outros, 1988, pesquisa de Cancer 48:6844 - 49) e em adenocarcinoma do cólon (Freier e outros, 1999, Gut 44:704 - 08). Muitas das desordens do supercrescimento são associadas com uma incidência aumentada de tumores da infância. Cinco a dez por cento dos indivíduos com a Síndrome prenatal de Beckwith-Weidmann de desordem do crescimento (BWS) ou o hemihiperplasia desenvolvem tumores tais como o nefroblastoma, o carcinoma adrenal, e o neuroblastoma (Morison et ah, 1998, Review medicina Molecular hoje 4:110 - 05). O fator de predisposição ao tumor

509

nestas crianças parece ser a perda do mosaico do gene imprinting IGF-2 maternal, duplicação do braço cromossômico paternal (1 IP) que carrega IGF-2. Ambas as alterações aumentariam o nível da expressão de IGF-2. A super-expressão de IGF-2 como resultado da disomia do mosaico uniparental ou da perda do IGF-2 imprinting foi detectado também em tumores de Wilms. As desordens do crescimento não são observadas nestas crianças mesmo que as alterações do gene IGF-2 ocorram também em alguns tecidos normais, talvez refletindo a distribuição do tecido das células afetadas. O gene IGF-2 maternal ocorre também nos ratos, e os efeitos da super-expressão de IGF-2 são pertinentes à situação humana (Cariani et al., 1991, Journal of Hepatology 13: 220-26, Schirmacher et al., 1992, Cancer Research 52: 2549-56; Harris et al, 1998, Oncogene 16: 203-09). A incidência de tumores e aumento organomegálicos nos ratos que expressa transgenicalmente o excesso de IGF-2 (Christofori et al., 1994, Nature 369: 414-18, Ward et al., 1994, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 91: 10365-9, Wolf et al, 1994, Endocrinology 135: 1877-86, Bates et al, 1995, British Journal of Cancer 72: 1189-93, Hassan et al, 2000, Cancer Research 60: 1070-76). A super-expressão de IGF-2 aumentam a aparência espontânea da próstata, intestinal, do fígado e de tumores epidérmicos. A expressão específica do plasma que usa promotores do fígado eleva carcinomas hepatocelulares e linfoma. Assim, em uma incorporação, a presente invenção fornece um método de tratar um paciente na necessidade de tal tratamento, compreendendo a administração ao paciente de uma quantidade eficaz de um antagonista de IGF-1R como descrita aqui, onde o antagonista inibe a ativação de IGF-1R por IGF-2. Em uma outra incorporação, o paciente tem o câncer. Em uma outra incorporação, o paciente tem um tumor. Em uma outra incorporação, o paciente tem câncer de fígado, adenocarcinoma de cólon, Síndrome de Beckwith-Weidmann, hemihiperplasia, nefroblastoma, carcinoma adrenal, neuroblastoma, perda do mosaico do gene de imprinting IGF-2 maternal, duplicação do braço cromossomal paternal (11P), expressão aumentada de IGF-2, um tumor (um tumor por exemplo, de próstata, mamário, intestinal, do fígado, epidérmico ou de Wilms),

S10

organomegalia, carcinoma hepatocelular ou linfoma.

Em um outro aspecto, a invenção fornece métodos de impedir que um câncer se espalhe a uma outra parte do corpo, ou de tratar um câncer que se espalhe a uma outra parte do corpo. Em uma incorporação, o câncer se espalhou para a região do linfonodo. Em uma outra incorporação, o câncer é metastático. O tumor preliminar pode ser qualquer tipo de tumor, por exemplo, um tumor de adenocarcinoma (por exemplo, um tumor de adenocarcinoma da próstata, um tumor de carcinoma da mama, ou um tumor de carcinoma celular renal), um tumor de célula não-pequena ou um tumor pequeno do câncer de pulmão, um tumor do câncer de tireóide, etc. O local do tumor metastático pode estar em qualquer lugar no corpo. Pode estar, por exemplo, no osso, no sistema linfático, no pulmão, no cérebro, no olho, na pele, no pâncreas ou no fígado. Em uma incorporação particular, um paciente que tem uma doença de tumor é tratado com uma quantidade eficaz de uma composição inibindo IGF-1R da presente invenção de forma que o tumor preliminar é impedido de metastizar. Em uma outra incorporação particular, um paciente que tem um tumor preliminar é tratado com uma quantidade eficaz de uma composição inibitória de IGF-1R da presente invenção de forma que o tumor preliminar será inibido de metastizar. Em uma outra incorporação particular, um paciente que tem um tumor metástico é tratado com uma quantidade eficaz de uma composição inibitória de IGF-1R da presente invenção de forma que o crescimento ou o espalhamento do tumor secundário é inibido. Em uma outra incorporação particular, um paciente que tem um tumor metástico é tratado com uma quantidade eficaz de uma composição inibitória de IGF-1R da presente invenção de forma que o tumor secundário é reduzido em tamanho. Em uma incorporação mais particular, o tumor preliminar é um tumor de adenocarcinoma, um tumor celular não pequeno do pulmão, um tumor celular pequeno do pulmão ou um câncer de tireóide. Em uma outra incorporação mais particular, o tumor metástico está em um osso. Em uma outra incorporação mais particular, um tumor metástico é impedido ou inibido de se formar em um osso. Em uma outra incorporação mais particularmente definida, o método compreende o

S11

tratamento do paciente com uma composição inibitória de IGF-1R da presente invenção e de um ou outros tratamentos mais (por exemplo, um tratamento que elimine ou iniba o crescimento celular do câncer, tais como a radiação, terapia hormonal ou quimioterapia, ou um tratamento que iniba o turnover do osso, tal como o denosumab), não se limitando aos exemplos que são fornecidos aqui. Esse ou outros tratamentos podem incluir, por exemplo, o padrão de tratamento para a condição particular e/ou tratamento paliativo ao paciente.

Sem ser limitada a qualquer teoria particular, a célula do tumor parecem depender do Kinase/Akt do PB que sinaliza a cascata para resistir à atividade de indução de quimioterapia, da radiação, e terapia do anti-hormônio. Assim, em uma incorporação, a presente invenção fornece métodos de tratar um paciente na necessidade de tal tratamento que compreende a administração ao paciente de um antagonista de IGF-1R da presente invenção e uma quimioterapia, radiação, e/ou uma terapia de anti-hormônio. Este conceito foi validado experimentalmente em modelos de cultura celular e em modelos do tumor do roedor pelo antisenso pelas mutações negativas dominantes (revistos por Baserga et al, 1997, Biochimica et Biophysica Acta 1332: F105-26, Baserga, 2000, Oncogene 19: 5574-81). Em uma incorporação, os agentes quimioterápicos são selecionados do grupo que consiste em inibidores mitóticos, em agentes alcalantes, em anti-metabólitos, em intercalação de antibióticos, em inibidores do fator do crescimento, em inibidores do ciclo celular, em enzimas, em inibidores da topoisomerase, em agentes de anti-sobrevivência, modificadores de respostas biológicas, anti-hormônios, por exemplo anti-andrógenos, e agentes anti-angiogênicos. Um exemplo de um agente quimioterápico que possa ser administrado em combinação com um inibidor do receptor de IGF-1 da invenção é CPT-11. O CPT-11 (trihidrato do hidrocloreto de irinotecano) é semi-sintético, derivado de camptotecina e solúvel em água, um alcalóide da planta. O CPT-11 é um metabólito associado chamado SN38 inibidor da topoisomerase 1 (TOPO 1). Esta enzima introduz as rupturas reversíveis de cadeia única do DNA que se permitem o desenrolamento e a subsequente replicação do DNA. A inibição de TOPO1 impede a religação de

512

rupturas da fita após a replicação do DNA tendo por resultado a fragmentação cromossomal extremamente aumentada. Estes danos do DNA promovem a morte da célula por apoptose com a ação de p53 e outros sistemas que monitoram a integridade do genoma. O efeito citotóxico de CPT-11 é limitado geralmente às células que replicam o DNA (S-Fase). As células inativas são na maior parte não afetadas. Em uma outra incorporação, a presente invenção fornece o tratamento de um paciente na necessidade deste com uma quantidade eficaz de um antagonista de IGF-1R da presente invenção e com uma quantidade eficaz de um agente de indução. Em uma outra incorporação, um agente de anti-angiogênese, tal como (matriz-metaloproteinase 2) um inibidor MMP-2, (matriz-metaloproteinase 9) um inibidor MMP-9, e/ou um inibidor de COX-II (ciclooxigenase II), é usado conjuntamente com um composto da invenção. Os exemplos de inibidores úteis de COX-II incluem CELEBREX™ (alecoxib), BEXTRA™ (valdecoxib), e VI0XX™ (rofecoxib). Os exemplos de inibidores úteis de metaloproteinase da matriz são descritos nos documentos WO 96/33172 (publicado em 24 de outubros de 1996), WO 96/27583 (publicado em 7 de março de 1996), pedido de patente europeu EP 97304971.1 (depositado me 18 de julho de 1997), pedido de patente europeu EP 99308617.2 (depositado em 29 de outubro de 1999), WO 98/07697 (publicado em 26 de fevereiro de 1998), WO 98/03516 (publicado em 29 de janeiro de 1998), WO 98/34918 (publicado em 13 de agosto de 1998), WO 98/34915 (publicado em 13 de agosto de 1998), WO 98/33768 (publicado em 06 de agosto de 1998), WO 98/30566 (publicado em 16 de julho 1998), pedido de patente europeu EP 606,046 (publicado em 13 de julho de 1994), pedido de patente europeu EP 931,788 (publicado em 28 de julho de 1999), WO 90/05719 (publicado em 31 de maio de 1990), WO 99/52910 (publicado em 21 de outubro de 1999), WO 99/52889 (publicado em 21 de outubro de 1999), WO 99/29667 (publicdo em 17 de julho de 1999), PCT No. PCT/IB98/01113 (depositado em 21 de julho de 1998), pedido de patente europeu EP 99302232.1 (depositado em 25 de março de 1999), pedido de patente inglês US 99129611 (depositado em 3 de junho de 1999), pedido provisional americano 60/148,464 (depositado em 12 de agosto de 1999), patente

513

US5,863,949 (emitida em 26 de janeiro de 1999), patente US5,861,510 (emitida em 19 de janeiro de 1999), e pedido de patente europeu EP 780,386 (publicado em 25 de janeiro de 1997), as quais são incorporados aqui em suas totalidade pela referência. Em uma incorporação, o inibidor de MMP é um que não demonstra artralgia. Em uma outra incorporação, o inibidor de MMP inibe seletivamente MMP-2 e/ou MMP-9 relativo a outras matriz-metaloproteinases (isto é, MMP-I, MMP- 3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP-7, MMP-8, MMP-IO, MMP-11, MMP-12, e MMP-13). Alguns exemplos específicos dos inibidores de MMP úteis na presente invenção são AG-3340, RO 32-3555, RS 13 - 0830, e os compostos citados na seguinte lista: 3-[[4-(4-fluor-fenoxi)-benzeno-sulfonil]-(I-hidroxicarbamoil-ciclopentil)-amino]-ácido propiônico; 3-exo-3-[4-(4-fluor-fenoxi)- benzenesulfonilamina]-8-oxa-biciclo[3,2,1]octane-3-acido carboxílico hidroxiamida; (2R, 3R) I-[4-(2- cloro-4-fluor-benziloxi)-benzenosulfonil]-3-hidroxi-3-metil-piperidina-2- acido carboxílico hidroxiamida; 4-[4-(4-fluor-fenoxi)-benzenosulfonilamina]-tetrahidro-piran-4- acido carboxílico hidroxiamida; 3-[[4~(4-fluor~fenoxy)-benzenosulfon-il]-(1-hidroxicarbamoil-ciclobutil) amino]-ácido propiônico; 4-[4-(4-cloro-fenoxi)-benzenosulfonilamina]-tetrahidro-piran-4 ácido carboxílico hidroxiamida; (R) 3-[4-(4-cloro-fenoxi)-benzenosulfonilamina]-te- trahidro-piran-3- acido carboxílico hidroxiamida; (2R, 3R) 1-[4-(4-fluor-2-metil-benziloxi)-benzenosulfonil]-3-hidroxi-3-metil-pi-peridina-2- acido carboxílico hidroxiamida; 3-[[4-(4-fluor-fenoxi)-benzeneo-ulfonil]-(I- hydroxicarbamoil- 1 -metil-ethi)-amino]-ácido propiônico; 3-[[4-(4-fluor-fenoxi)-benzenesulfonil]-(4- hidroxicarbamoil-tetrahidro- piran-4-il)-amino]-acido propionico; 3-exo-3-[4-(4-cloro-fenoxi)- benzenesu- lfonilamino]-8-oxa-iciclo[3.2.1]octano-3- acido carboxílico hidroxiamida; 3-endo-3-[4-(4- fluor-fenoxi)-benzenesulfonilamino]-8-oxa-iciclo[3.2.1]octano-3 acido carboxílico hidroxiamida; e (R) 3-[4-(4-fluor-fenoxi)-b- enzenesiilfonilamino]-tetrahidro-furan-3- acido carboxílico hidroxiamida e sais aceitáveis farmacêuticamente, derivados solvatados e outras preparações do composto.

As mutações esporádicas que inativam o produto do gene de PETN ocorrem relativamente freqüentemente na maioria de cânceres humanos (Yamada

514

e outros, 2001, Cell Sci 114:2375 de J - 82, Montes e outros, 2002, Pharmacol. Therapeut 93:243 - 51). A perda de PTEN faz com que o Akt do estado fosforilado persista com a perda da habilidade para baixa regulação dos sinais estimulatórios que originam-se de IGF-1R e de outras fontes. O status do supressor do tumor p53 influencia também a atividade do sistema de sinalização de IGF-1R. No estado de desenvolvimento, a transcrição basal ou constitutiva de IGF-1R é represada por p53 através de um mecanismo indireto. A ativação de Akt promove a fosforilação de mdm2, que então liga o supressor do tumor p53 e promove sua degradação (Mayo e outros, 2002, TIBS 27:462 - 67), tendo por resultado a expressão aumentada de IGF-1R. Um resultado similar é observado quando p53 é inativado pela mutação. Quando transientemente expressas em Saos-2 (uma linhagem celular de osteosarcoma humana) e em RD (uma linhagem celular de rabdomiosarcoma), o tipo selvagem p53 é abilitado a suprimir a atividade a construção do promoter de IGF-1R cotransfectado, enquanto que as versões do mutante derivadas do tumor, de p53 não têm nenhum efeito. Foi proposto que o nível aumentado de IGF-1R promove a resistência à apoptose associado com a perda de células malignas de p53 (Werner et al, 2000, Cell Mol Life Sci 57:932-42). Assim, em uma incorporação, a presente invenção fornece um método de tratar uma condição cancerosa em um paciente na necessidade de tal tratamento que compreende a administração ao paciente de uma quantidade eficaz de um antagonista de IGF-1R como descrita aqui, onde a condição cancerosa é caracterizada pelas células que têm uma expressão ou uma atividade reduzida de p53.

O WTI (proteína do supressor 1 do tumor do fígado de Wilms) também foi mostrado que liga e reprime o promoter de IGF-1R. Assim, em uma incorporação, a presente invenção fornece um método de tratar uma condição cancerosa em um paciente na necessidade de tal tratamento que compreende a administração ao paciente de uma quantidade eficaz de um antagonista de IGF-1R como descrita aqui onde a condição cancerosa é caracterizada por uma expressão ou por uma atividade reduzida de WTI.

S15

A proliferação de fibroblastos normais foi mostrada para requerer, sob condições de cultura definida, a ação combinada de IGF e um fator de crescimento do estroma (por exemplo PDGF, EGF) para aumentar o Ras/Raf/ Map Kinase e promover a entrada do ciclo celular (transição de G0 a G1). Os fibroblastos derivaram-se de oncogenes de IGF- 1R dos ratos que não respondem ao fator do crescimento sozinhos, ou a maioria (por exemplo Ras oncogênico) que ativam a cascata Ras/Raf/Map Kinase. Assim, em uma incorporação, a presente invenção fornece um método de tratar um paciente na necessidade de tal tratamento que compreende a administração ao paciente de um antagonista de IGF-1R como descrito aqui e um agente que alveje um fator do crescimento e/ou um receptor do fator de crescimento, tal como uma tirosina quinase do receptor do fator de crescimento, por exemplo, o EGFR, o HER-2, o bcr-abl, o VEGFR, o kit, o raf, o mTOR, o CDKI/2, o VEGFR2, o PKCβ, o Mek, e/ou o KDR. Os exemplos das moléculas que alvejam tais fatores e/ou receptores do crescimento incluem panitumumab (Abgenix, Fremont, CA/Amgen, Thousand Oaks, CA), HERCEPTIN™ (Genentech, South San Francisco, CA), GLEEVEC™ (Novartis, East Hanover, NJ), IRESSA™ (AstraZeneca, Wilmington, DE), ERBITUX™, (ImClone, New York, NY), AVASTIN™, (Genentech), PTK787 (Novartis), SUI 1248 (Pfizer, New York, NY), TARCEVA™ (OSI Pharmaceuticals, Melville, NY), 43-9006 (Bayer, West Haven, CT), CCI-779 (Wyeth, Madison, NJ), RADOOI (Novartis), BMS- 387032 (Bristol-Myers Squibb, New York, NY), IMC-ICI 1 (ImClone), LY333531 (Eli Lilly, Indianapolis, IN), PD 184352 (Pfizer), 2C4 (Genentech), and GW2016 (GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, NC).

O papel de IGF-1R na hematologia maligna foi revisto por (Novak et al, 2003, *Insulin-Like Growth Factors and Hematological Malignancies* in Insulin-Like Growth Factors, LeRoith et al, ed.s, Landes Bioscience). Um papel funcional para o IGF-1R na hematologia maligna é demonstrado, por exemplo, para a habilidade de anticorpos monoclonais de IGF-1R de obstruir o crescimento de células transformadas em cultura. O IGF-1 foi encontrado para aumentar o crescimento da leucemia mielogênica aguda humana e blasts de leucemia linfoblásticas recém

516

isoladas. Com respeito às celulas T malígnas, o IGF-1 foi mostrado para influenciar o crescimento de células de ratos do linfoma que carregam um fenótipo da célula pre-T das células linfoblásticas agudas da leucemia e, da linhagem preliminar imatura e madura do ser humano que foram encontradas para expressar números elevados de IGF-1R. Assim, em uma incorporação, a presente invenção fornece métodos de tratar uma hematologia maligna em um paciente na necessidade que compreende este, administrando ao paciente um antagonista de IGF- 1 R como descrito aqui. Em uma outra incorporação, a hematologia maligna é uma leucemia mielogênica aguda, uma leucemia linfoblástica aguda, ou uma célula T malígna.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece métodos de identificar os pacientes que são mais prováveis se beneficiar do tratamento usando as composições e/ou os métodos de tratamento da presente invenção. Tais métodos podem permitir o melhoramento de um regime terapêutico às necessidades de um paciente particular e de reduzir a probabilidade de um curso de tratamento ineficaz ou não produtivo. Em uma incorporação, a presente invenção fornece um método de determinar se um paciente é um candidato para o tratamento usando uma composição ou um método como aqui descrito determinando se uma célula alvo ligada dentro do paciente expressa IGF-1R, onde se o tipo de célula alvo pode expressar IGF-1R, então o paciente é um candidato para o tratamento. Em uma outra incorporação, o método compreende determinar o número médio aproximado de moléculas de IGF-1R por célula alvo, onde, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5, ou 10^6 de IGF-1R por célula indicam que o paciente é um candidato para o tratamento. O número médio aproximado de moléculas de IGF-1R por célula alvo pode ser determinado usando qualquer técnica conhecida do estado da técnica, por exemplo, marcando uma amostra que compreende células do tipo da célula alvo com uma molécula de ligação a IGF-1R, e detectando a quantidade de molécula de ligação de IGF-1R limitada à amostra, onde a quantidade de molécula de ligação de IGF-1R detectada é proporcional ao número médio de moléculas de IGF-1R na amostra. Em uma outra incorporação, o método compreende comparar

S17

o número médio aproximado de moléculas de IGF-1R por célula alvo a um padrão de referência, onde se o número médio aproximado de moléculas de IGF-1R por célula alvo for maior do que o padrão de referência, então o indivíduo tem maior probabilidade de se beneficiar do tratamento usando as composições e/ou métodos de tratamento da presente invenção. Em uma outra incorporação, o tipo de célula alvo é um tipo de célula cancerosa. Em uma outra incorporação, o tipo de célula alvo é um tipo de célula de câncer de cólon, um tipo de célula de câncer de mama, um tipo de célula de NSCLC, ou um tipo de célula de leucemia. Em uma outra incorporação, um indivíduo que seja um candidato para o tratamento é identificado detectando IGF-1 e/ou IGF-2 no tipo de célula alvo, ou no status do tipo de célula alvo. Em uma outra incorporação, o tipo de célula alvo é um tipo de célula cancerosa. Em uma outra incorporação, o tipo de célula alvo é um tipo de célula de câncer de colon, um tipo de célula de câncer de mama, um tipo de célula de NSCLC, ou um tipo de célula de leucemia.

Em uma outra incorporação, um indivíduo que seja um candidato para o tratamento é identificado detectando a atividade de sinalização mediada por IGF-1R no tipo da célula alvo, onde a sinalização mediada por IGF-1R no tipo da célula alvo indica que o indivíduo é um candidato para o tratamento. Os exemplos das moléculas que podem ser monitoradas para mudanças IGF-1R-dependentes são mostradas nas figura 10, tais como as moléculas na cascata de PI3/Akt, adaptadores, por exemplo, de IGF-1R, de IRS, Akt, etc. Tais moléculas podem ser monitoradas para, por exemplo, uma mudança no estados da fosforilação, por exemplo, um aumento na fosforilação. Os anticorpos fosfo-específicos que reconhecem as formas ativas destes marcadores de proteína são altamente desenvolvidos, e estes reagentes provaram ser de confiança para a detecção do imunoblot em sistemas experimentais.

As composições e/ou os métodos da presente invenção também podem ser usados, por exemplo, em tratamentos cosméticos, em tratamentos veterinários, para aumentar a longevidade, para tratar defeitos reprodutivos e para tratar uma variedade de desordens relacionadas ao crescimento.

578

Métodos Terapêuticos e administração de proteínas de ligação ao antígeno

Determinados métodos fornecidos aqui compreendem a administração de uma proteína de ligação ao antígeno de IGF-1R a um paciente, reduzindo desse modo a resposta biológica de IGF-1 induzida que apresenta um papel em uma condição particular. Em incorporações particulares, os métodos da invenção envolvem contatar IGF-1R endógenos com uma proteína de ligação ao antígeno de IGF-1R, por exemplo, através da administração a um paciente ou em um procedimento ex vivo.

O termo "tratamento" abrange o alívio ou a prevenção pelo menos de um sintoma ou outro aspecto de uma disordem, ou a redução da severidade da doença, e similar. Uma proteína de ligação ao antígeno não necessita efetuar uma cura completa, nem erradicar cada sintoma ou minifestação de uma doença, para constituir um agente terapêutico viável. Como é reconhecido no campo pertinente, as drogas empregadas como agentes terapêuticos podem reduzir a severidade de um estado de uma dada doença, mas não necessitam abolir cada manifestação da doença a ser considerada como agentes terapêuticos úteis. Similarmente, um tratamento profilaticamente administrado não necessita ser completamente eficaz em impedir o início de uma condição a fim de constituir um agente profilático viável. Simplesmente reduzir o impacto de uma doença (por exemplo, reduzindo o número ou a severidade de seus sintomas, ou aumentando a eficácia de um outro tratamento, ou produzindo um outro efeito benéfico), ou reduzir a probabilidade em que a doença ocorrerá ou piorar em um paciente, são suficientes. Uma incorporação da invenção é dirigida a um método que compreende administração a um paciente de um antagonista de IGF-1R em uma quantidade e por um momento suficiente para induzir uma melhoria sustentada sobre a linha de base de um indicador que reflita a severidade da desordem particular.

Como é compreendido no campo pertinente, as composições farmacêuticas que compreendem as moléculas da invenção são administradas a um paciente de uma maneira apropriada à indicação. As composições farmacêuticas não podem

519

ser administradas por qualquer técnica apropriada, incluindo mas não limitadas a parenteralmente, topicamente ou por inalação. Se injetada, a composição farmacêutica pode ser administrada, por exemplo, através das rotas intra-articular, intravenosa, intramuscular, intralesional, intraperitoneal ou subcutânea, pela injeção por bolus ou por infusão contínua. A administração localizada, por exemplo, em um local da doença ou do ferimento é contemplada, como é a distribuição transdermal e a liberação sustentada dos implantes. A distribuição pela inalação inclui, por exemplo, a inalação nasal ou oral, o uso de um nebulizador, a inalação do antagonista no formato do aerossol, e similares. Alternativas incluem colírios; preparações orais incluindo pílulas, cápsulas, comprimidos ou goma de mascar; e preparações tópicas tais como loções, géis, spray, e pomadas.

O uso de proteínas de ligação ao antígeno em procedimentos ex vivo é contemplado também. Por exemplo, o sangue de um paciente ou o outro líquido corporal podem ser contatados com uma proteína de ligação ao antígeno que liga IGF-1R ex vivo. A proteína de ligação ao antígeno pode ser limitada a uma matriz insolúvel apropriada ou a um material de sustentação sólida.

Vantajosamente, as proteínas de ligação a antígeno são administradas no formato de uma composição que compreende um ou mais componentes adicionalis tais como um portador, um excipiente ou um diluente fisiologicamente aceitável. Opcionalmente, a composição compreende adicionalmente um ou mais agentes fisiologicamente ativos, por exemplo, uma segunda substância de inibição de IGF-1, uma substância anti-angiogênica, uma substância quimioterápica, uma substância analgésica, etc., os exemplos não-exclusivos de que são fornecidos aqui. Em várias incorporações particulares, a composição compreende um, dois, três, quatro, cinco, ou seis agentes fisiologicamente ativos além de uma proteína de ligação ao antígeno ligando-se a IGF-1R.

Em uma incorporação, a composição farmacêutica compreende uma proteína de ligação ao antígeno da invenção junto com uma ou mais substâncias selecionadas do grupo que consiste em um tampão, um antioxidante, tal como o

ácido ascórbico, um polipeptídio de baixo peso molecular (tal como aqueles que têm menos de 10 aminoácidos), uma proteína, um aminoácido, um hidrato de carbono, tal como a glicose, sucrose ou dextrina, um agente quelante, tal como o EDTA, glutationa, um estabilizador, e um excipiente. Misturados ou protegidos com albumina conspecífica do soro são exemplos de diluentes apropriados. De acordo com padrões apropriados da indústria, os preservativos tais como o álcool benzil podem também ser adicionados. A composição pode ser formulada como liofilizada usando soluções apropriadas do excipiente (por exemplo, sucrose) como diluente. Os componentes apropriados são não-tóxicos aos receptores nas dosagens e nas concentrações empregadas. Exemplos mais adicionais dos componentes que podem ser empregados em formulações farmacêuticas são apresentadas em Pharmaceutical Science of Remington, 16o Ed. (1980) e 20o Ed. (2000), Mack Publishing Companhia, Easton, PA.

Os kits a serem utilizados por médicos incluem uma substância de inibição do receptor de IGF-1 da invenção e um marcador ou outras instruções para o uso em como tratar algumas das condições discutidas aqui. Em uma incorporação, o kit inclui uma preparação estéril de uma ou mais proteínas de ligação ao antígeno ligando-se a IGF-1R, que podem estar no formulário de uma composição como divulgado acima, e pode estar em uma ou mais vias.

As dosagens e a freqüência da administração podem variar de acordo com fatores como a rota de administração, as proteínas de ligação ao antígeno particularmente empregadas, a natureza e a severidade da doença a ser tratada, se a condição é aguda ou crônica, e de acordo com o tamanho e a condição geral do paciente. As dosagens apropriadas podem ser determinadas pelos procedimentos conhecidos pertinentes ao estado da técnica, por exemplo nas experimentações clínicas que podem envolver estudos de escalonamento de dose.

Uma substância inibidora do receptor de IGF-1 da invenção pode ser administrada, por exemplo, uma vez ou mais de uma vez, por exemplo, em intervalos regulares sobre um período de tempo. Em incorporações particulares, uma proteína de ligação ao antígeno é administrada sobre um período pelo menos

S21

de um mês ou mais, por exemplo, por um, dois, ou três meses ou uniforme indefinidamente. Para tratar condições crônicas, o tratamento a longo prazo é geralmente o mais eficaz. Entretanto, para tratar condições agudas, a administração por períodos mais curtos, por exemplo, uma a seis semanas, pode ser suficiente. Em geral, a proteína de ligação ao antígeno é administrada até que o paciente manifeste um grau medicamentoso relevante da linha de base excedente da melhoria para o indicador ou indicadores escolhidos.

As incorporações particulares da presente invenção envolvem administrar uma proteína de ligação ao antígeno em uma dosagem de aproximadamente 1 mg de proteína de ligação ao antígeno por quilograma do peso do paciente por dia ("mg/kg/dia") a aproximadamente 10 mg/kg/dia, mais preferivelmente de aproximadamente 500 mg/kg/dia a aproximadamente 5 mg/kg/dia, e mais preferivelmente de aproximadamente 5 µg/kg/dia a aproximadamente 2 mg/kg/dia, a um paciente. Em incorporações adicionais, uma proteína de ligação ao antígeno é administrada aos adultos uma vez por a semana, duas vezes por semana ou três ou mais vezes por a semana, para tratar uma doença, uma condição, uma desordem mediada por IGF-1 e/ou IGF-2, por exemplo, uma desordem médica divulgada aqui. Se injetada, a quantidade eficaz de proteína de ligação ao antígeno por dose de adulto pode variar de 1-20 mg/m^2, e é preferivelmente aproximadamente 5-12 mg/m^2. Alternativamente, uma dose baixa pode ser administrada; a quantidade pode variar de 5-100 mg/dose. Uma escala para uma dose baixa é de aproximadamente 20-30 mg por dose. Em uma incorporação da invenção, uma dose baixa de 25 mg/dose é administrada repetidamente pela injeção. Se uma rota de administração à exceção da injeção for usada, a dose é ajustada apropriadamente de acordo com práticas médicas padrão. Um exemplo de um regime terapêutico envolve injetar uma dose de aproximadamente 20-30 mg de proteína de ligação ao antígeno uma a três vezes por semana sobre um período de pelo menos três semanas, embora o tratamento por períodos mais longos pode ser necessário para induzir o grau desejado de melhoria. Para assuntos pediátricos (idade 4-17), um regime apropriado exemplificadamente

envolve a injeção subcutânea de 0,4 mg/kg, até uma dose máxima de 25 mg de proteína de ligação ao antígeno administrado duas ou três vezes por semana.

As incorporações particulares dos métodos fornecidos aqui envolvem a injeção subcutânea de 0,5 mg a 10 mg, preferivelmente 3 a 5 mg, de uma proteína de ligação ao antígeno, uma vez ou duas vezes por semana. Uma outra incorporação é dirigida à administração pulmonária (por exemplo, pelo nebulização) de 3 mg ou mais de proteína de ligação ao antígeno uma vez por semana.

Os exemplos dos regimes terapêuticos fornecidos aqui compreendem a injeção subcutânea de uma proteína de ligação ao antígeno uma vez por semana, em um dose de 1,5 a 3 mg, para tratar uma condição em que IGF-1R sinaliza o início de um papel. Os exemplos de tais condições são fornecidos aqui e incluem, por exemplo, o câncer, a acromegalia e os outras desordens do crescimento, como diabete, obesidade, degeneração macular, e envelhecimento. A administração semanal da proteína de ligação ao antígeno é contínua até que um resultado desejado seja conseguido, por exemplo, os sintomas do paciente cessem. O tratamento pode recomeçar com as doses necessárias, ou, alternativamente, doses de manutenção podem ser administradas.

Outros exemplos de regimes terapêuticos fornecidos aqui compreendem a administração subcutânea ou intravenosa de uma dose de 1, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, ou 20 mg de um inibidor de IGF-1R da presente invenção por massa do corpo por quilograma do paciente (mg/kg). A dose pode ser administrada uma vez ao paciente, ou mais de uma vez em um determinado intervalo, por exemplo, uma vez por dia, três vezes por semana, duas vezes por semana, uma vez por semana, três vezes por mês, duas vezes por mês, uma vez por mês, uma vez em cada dois meses, uma vez em cada três meses, uma vez em cada seis meses ou uma vez em um ano. A duração do tratamento e todas as mudanças na dose e/ou na freqüência do tratamento, podem ser alteradas ou variada durante o tratamento a fim de encontrar-se as necessidades particulares do paciente.

Em uma outra incorporação, uma proteína de ligação ao antígeno é

S23

administrada ao indivíduo em uma quantidade e por um tempo suficiente para induzir uma melhoria, preferivelmente uma melhoria sustentada, pelo menos em um indicador que reflita a severidade da desordem que está sendo tratada. Vários indicadores que refletem a extensão da doença, da enfermidade ou da condição do paciente podem ser estimados para determinar se a quantidade e tempo do tratamento são suficientes. Tais indicadores incluem, por exemplo, indicadores clinicamente reconhecidos da severidade da doença, sintomas ou manifestações da enfermidade em questão. Em uma incorporação, uma melhoria é considerada para ser sustentada se o paciente exibir a melhoria pelo menos em duas ocasiões separadas por duas a quatro semanas. O grau de melhoria é determinado geralmente por um médico, que possa fazer esta determinação baseada em sinais, em sintomas, em biopsias, ou em outros resultados de teste, e que possa também empregar os questionários que são administrados ao paciente, tal como os questionários de qualidade de vida desenvolvidos para uma dada doença.

Os níveis elevados de IGF-1 e/ou IGF-2 são associados com um número de enfermidades, incluindo, por exemplo, câncer (cânceres, por exemplo, do pulmão, de próstata, de mama e de cólon), e acromegalia e outras desordens do crescimento (por exemplo, crianças constitucionalmente altas). Os pacientes com uma dada desordem podem ser selecionados, para identificar aqueles indivíduos com elevados níveis de IGF-1 e/ou IGF-2, identificando desse modo os pacientes que podem beneficiar a maioria do tratamento com uma proteína de ligação ao antígeno ligando-se a IGF-IR. Assim, os métodos de tratamento fornecidos aqui compreendem opcionalmente uma primeira etapa de medir os níveis de IGF-1 e/ou IGF-2 de um indivíduo. Uma proteína de ligação ao antígeno pode ser administrada a um indivíduo em quem os níveis IGF-I e/ou IGF-2 estão elevados acima do normal. Em uma incorporação, a presente invenção fornece um método de tratar uma desordem sobre o crescimento (por exemplo, acromegalia) compreendendo administrando a um paciente na necessidade deste de uma proteína de ligação ao antígeno da presente invenção e pegvisomante.

Os níveis de IGF-1 e/ou de IGF-2 de um indivíduo podem ser monitorados

antes, durante e/ou depois do tratamento com uma proteína de ligação ao antígeno, para detectar mudanças, se existir, em seus níveis. Para algumas desordens, a incidência de niveis IGF-1 e/ou níveis de IGF-2 elevados podem variar de acordo com fatores como o estágio da doença ou a forma particular da doença. As técnicas conhecidas podem ser empregadas para medir os níveis IGF-1 e/ou IGF-2, por exemplo, no soro de um paciente. Os níveis de IGF-1 e/ou IGF-2 em amostras do sangue podem ser medidos usando qualquer técnica apropriada, por exemplo, ELISA.

As incorporações particulares dos métodos e as composições da invenção envolvem o uso de uma proteína de ligação ao antígeno e um ou mais antagonistas adicionais de IGF-1R, por exemplo, duas ou mais proteínas de ligação ao antígeno da invenção, ou uma proteína de ligação ao antígeno da invenção e um ou outros antagonistas de IGF-1R. Em incorporações mais adicionais, a proteína de ligação ao antígeno é administrada sozinha ou em combinação com outros agentes úteis para tratar a condição com que o paciente e afligido. Os exemplos de tais agentes incluem drogas proteináceas e não-proteináceas. Quando a terapêutica múltipla é co-administrada, as dosagens podem ser ajustadas adequadamente, como é reconhecido no estado da técnica pertinente. "Co-administração" é a terapia de combinação e não são limitadas à administração simultânea, mas incluem também os regimes de tratamento em que uma proteína de ligação ao antígeno é administrada pelo menos uma vez durante um curso de tratamento que envolve administrar pelo menos um outro agente terapêutico ao paciente.

Os exemplos de outros agentes que podem ser co-administrados com uma proteína de ligação ao antígeno são outras proteínas de ligação ao antígeno ou polipeptídios terapêuticos que são escolhidos de acordo com a condição particular a ser tratada. Alternativamente, as drogas não-proteináceas que são úteis em tratar uma das condições particulares discutidas acima podem ser co-administradas com um antagonista de IGF-1R.

Terapia de Combinação

525

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece um método de tratar um paciente com uma proteína de ligação ao antígeno inibindo IGF-1R e um ou outros tratamentos. Em uma incorporação, tal terapia de combinação consegue a sinergia ou um efeito aditivo, por exemplo, atacando locais múltiplos ou alvos moleculares em um tumor. Os tipos de terapias de combinação que podem ser usadas em relação à presente invenção incluem (como apropriado) nódulos múltiplos de inibição ou ativação em uma única cascata relacionado a doença, múltiplas rotas em uma célula alvo, e tipos múltiplos de célula dentro de um tecido alvo (por exemplo, dentro de um tumor). Por exemplo, um inibidor de IGF-1R da presente invenção pode ser combinado com um tratamento que inibe IGF-1, promove a apoptose, inibe a angiogênese ou inibe o macrófago. Em uma outra incorporação, um agente alvejado, que, quando usado por si, falha ao elicitar um efeito terapeuticamente desejado, poderia ser usado, por exemplo, para sensibilizar células de câncer ou aumentar o efeito do tratamento de outros agentes. Em uma outra incorporação, um inibidor de IGF-1R de acordo com a invenção é usado em combinação com uma droga citotóxica ou outro agente alvejado que induz a apoptose. Em uma outra incorporação, um inibidor de IGF-1R é usado em combinação com um ou mais agentes que inibem os alvos diferentes que são envolvidos na sobrevivência da célula (por exemplo, PKB, mTOR), em receptores de tirosinas quinases diferentes (por exemplo, ErbBI, ErbB2, c-met, c-kit), ou em tipos diferentes de células (por exemplo, inibidores de KDR, c fms). Em uma outra incorporação, um inibidor de IGF-1R da invenção é adicionado ao padrão existente do cuidado para uma condição particular. Os exemplos de agentes terapêuticos incluem, mas não são limitados a, gemcitabina, taxol, taxotere e CPT- 11.

Em uma outra incorporação, um método da terapia da combinação compreende a administração ao paciente de dois, três, quatro, cinco, seis ou mais agonistas ou antagonistas de IGF-1R descritos aqui. Em uma outra incorporação, o método compreende a administração ao paciente de dois ou mais tratamentos que junto inibem ou ativam (diretamente ou indiretamente) a transdução mediada

S26

por sinalização de IGF-1R. Os exemplos de tais métodos incluem o uso de combinações de duas ou mais proteínas de ligação ao antígeno inibindo IGF-1R, de uma proteína de ligação ao antígeno inibindo IGF-1R e um ou outros agonistas de IGF-1, IGF-2, e/ou antagonistas de IGF-1R (por exemplo, os polipeptídios ligados a IGF-1 e/ou IGF-2, os derivados de polipeptídios ligados IGF-1R, IGF-1 e/ou IGF-2, anticorpos anti-IGF-1 e/ou IGF-2, ácidos nucléicos anti-senso contra IGF-1, IGF-2, e/ou IGF-1R, ou outras moléculas que ligam-se aos polipeptídios de IGF-1, de IGF-2, e/ou de IGF-IR ou aos ácidos nucléicos), ou de uma proteína de ligação ao antígeno inibindo IGF-1R e um ou outros tratamentos (por exemplo, cirurgia, ultra-som, radioterapia, quimioterapia, ou tratamento com outros agentes anti-cancer), como descrito, por exemplo, nas patentes US5,473,054 (emitida em 5 de dezembro de 1995), 6,051,593 (emitida em 18 de abril de 2000), 6,084,085 (emitida em 4 de julho de 2000), 6,506,763 (emitida em 14 de janeiro de 2003), US 03/0092631 (publicado em 15 de maio de 2003), 03/0165502 (publicado em 4 de setembro de 2003), 03/0235582 (publicado em 25 de dezembro de 2003), 04/0886503 (publicado em 6 de maio de2004), 05/0272637 (publicado em 8 de dezembro de 2005), WO 99/60023 (publicado em 25 de novembro de 1999), WO 02/053596 (publicado em 1 de julho de 2002), WO 02/072780 (publicado em 19 de setembro de 2002), WO 03/027246 (publicado em 3 de março de 2003), WO 03/020698 (publicado em 13 de março de 2003), WO 03/059951 (publicado em 24 de julho de 2003), WO 03/100008 (publicado em 4 de dezembro de 2003), WO 03/106621 (publicado em 24 de dezembro de 2003), WO 04/071529 (publicado em 26 de agosto de 2004), WO 04/083248 (publicado em 30 de setembro de 2004), WO 04/087756 (publicado em 14 de outubro de 2004), WO 05/112969 (publicado em 1 dedezembro de 2005), Kull et al, 1983, J Biol Chem 258:6561-66, Flier et al, 1986, Proc Natl Acad Sci USA 83:664-668, Conover et al, 1987, J Cell Physiol 133:560-66, Rohlik et al, 1987, Biochem Biophys Res Comm 149:276-81, Arteaga et al, 1989, J Clinical Investigation 84:1418-23, Arteaga et al, 1989, Cancer Res 49:6237-41, Gansler et al, 1989, American J Pathol 135:961-66, Gustafson et al, 1990, J Biol Chem 265:18663-67, Steele-Perkins et al, 1990,

527

Biochem Biophys Res Comm 171:1244-51, Cullen et al, 1992, Mol Endocrinol 6:91-100, Soos et al, 1992, J Biol Chem 267:12955-63, Xiong et al, 1992, Proc Natl Acad Sci USA 89:5356-60, Brunner et al, 1993, Euro J Cancer 29A:562-69, Furlanetto et al, 1993, Cancer Res 53:2522-26, Li et al, 1993, Biochem Biophys Res Comm 196:92-98, Kalebic et al, 1994, Cancer Res 54:5531-34, Lahm et al, 1994, Intl J Cancer 58:452-59, Zia et al, 1996, J Cell Biochem Supp 24:269-75, Jansson et al, 1997, J Biol Chem 272:8189-97, Scotlandi et al, 1998, Cancer Res 58:4127-31, Logie et al, 1999, Li et al, 2000, Cancer Immunol Immunotherapy 49:243-52, J Mol Endocrinol 23:23-32, De Meyts et al, 2002, Nature Reviews 1:769-83, Hailey et al, 2002, Mol Cancer Therapeutics 1:1349-53, Maloney et al, 2003, Cancer Research 63:5073-83, Burtrum et al, 2003, Cancer Research 63:8912-21, e Karavitaki et al, 2004, Hormones 3:27-36, (cada um incorporado aqui pela referência em sua totalidade) pode ser empregado nos métodos e nas composições da presente invenção. Além disso, um ou mais anticorpos do anti-IGF-1R ou derivados de anticorpos pode ser usado em combinação com uma ou mais moléculas ou outros tratamentos, onde as outras moléculas e/ou tratamentos não ligam-se diretamente e nem afetam IGF-1R, IGF-1, ou IGF-2, embora a combinação seja eficaz para tratar ou impedir uma condição, tal como, o câncer ou uma desordem do crescimento (por exemplo, acromegalia). Em uma incorporação, uma ou mais das moléculas e/ou dos tratamentos tanto impedem uma condição que seja causada por uma ou outras moléculas ou por tratamentos no curso da terapia, por exemplo, náusea, fadiga, alopecia, caquexia, insônia, etc. Em cada caso onde uma combinação de moléculas e/ou de outros tratamentos é usada, as moléculas e/ou tratamentos individuais podem ser administrados em qualquer ordem, sobre qualquer duração de tempo, que seja eficaz, por exemplo, simultaneamente, consecutivamente, ou alternadamente. Em uma incorporação, o método de tratamento compreende a finalização de um primeiro curso de tratamento com uma molécula ou outro tratamento antes de começar um segundo curso de tratamento. A duração de tempo entre o fim do primeiro curso de tratamento e o começo do segundo curso de tratamento pode ser qualquer

528

duração de tempo que permita que o curso total da terapia seja eficaz, por exemplo, segundos, minutos, horas, dias, semanas, meses, ou mesmo anos.

Em uma outra incorporação, o método compreende a administração de um ou mais antagonistas de IGF-1R descritos aqui e um ou outros tratamentos (um tratamento, por exemplo, terapêutico ou paliativo), por exemplo, tratamentos anti-câncer (tais como, a cirurgia, o ultra-som, o radioterapia, a quimioterapia, ou o tratamento com um outro agente anti-câncer). Onde um método compreende a administração de mais de um tratamento a um paciente, deve ser compreendida que a ordem, o sincronismo, o número, a concentração, e o volume das administrações estão limitadas somente pelas exigências médicas e as limitações do tratamento, isto é, dois tratamentos podem ser administrados ao paciente, por exemplo, simultaneamente, consecutivamente, alternadamente, ou de acordo com qualquer outro regime. Os exemplos dos agentes que podem ser administrados em combinação com antagonistas de IGF-1R descritos aqui incluem, mas não são limitados a, agentes de aumento de neutrófilos, irinotecan, SN-38, gemcitabina, herstatina ou um derivativo de ligação a IGF-1R de herstatina (como descrito, por exemplo, no pedido de patente US 05/0272637), AVASTIN® (Genentech, South San Francisco, CA), HERCEPTIN® (Genentech), RITUXAN® (Genentech), ARIMIDEX® (AstraZeneca, Wilmington, DE), IRESSA® (AstraZeneca), BEXXAR® (Corixa, Seattle, WA), ZEVALIN® (Biogen Idee, Cambridge, MA), ERBITUX® (Imclone Systems Inc., New York, NY), GEMZAR® (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), CAMPTOSAR® (Pfizer, New York, NY), GLEEVEC® (Novartis), SU-11248 (Pfizer), BMS-354825 (Bristol-Myers Squibb), panitumumab (Abgenix, Fremont, CA/Amgen Inc., Thousand Oaks, CA), and denosumab (Amgen Inc., Thousand Oaks, CA).

Os seguintes exemplos, reais e profilácticos, são fornecidos com a finalidade de ilustrar incorporações específicas ou características da invenção atual e não limitam seu escopo.

Exemplo 1:

Preparação de Antibióticos

529

Este exemplo demonstra um método de preparar os anticorpos que reconhecem o receptor de IGF-1. Os polipeptídios do receptor de IGF-1 podem ser empregados como imunogenes para gerar anticorpos monoclonais por técnicas convencionais. Reconhece-se que os polipeptídios em vários formatos podem ser empregados como imunogenes, por exemplo, proteínas inteiras, fragmentos destas, proteínas de fusão desta como fusões Fc, células que expressam a proteína recombinante na superfície celular, etc.

Para sumarizar um exemplo de tal procedimento, um imunogene de IGF-1R é emulsificado por completo. Adjuvante de Freund é injetado subcutaneamente em ratos de Lewis, em quantidades que variam de 10 µl -100 µl. Três semanas mais tarde, os animais imunizados são impulsionados com imunogene adicional emulsificados com adjuvante de Freund incompleto e impulsionados a cada três semanas depois deste. As amostras .do soro são periodicamente feitas pelo sangramento orbital ou excisão da ponta da cauda para testagem por ensaio dot-blot, ELISA (imunoensaio de ligação a enzima), ou inibição por ligação ^{125}I-IGF-1 ou ^{125}I-IGF-2 aos extratos celulares expressando IGF-1R. Depois da detecção de um anticorpo apropriado, é aplicada aos animais positivos uma injeção intravenosa final de antígeno em solução salina. Três a quatro dias mais tarde, os animais são sacrificados, os baços colhidos, e fundidos à linhagem celular murina AG8653 do mieloma. As linhagens resultantes do hibridoma são chapeadas em placas múltiplas de microtitulação em um meio seletivo HAT (hipoxantina, aminopterina e timidina) para inibir a proliferação de células, de mieloma híbrido e de híbrido de células não fundidas do baço.

Clones de hibridomas são gerados assim e selecionados para a reatividade com IGF-1R. A seleção inicial de sobrenadantes do hibridoma utiliza uma captação do anticorpo e uma ligação do receptor ^{125}I-IGF-1 parcialmente purificado. Os hibridomas que são positivos neste método de seleção são testados por uma captação modificada do anticorpo para detectar as linhagens de células do hibridoma produzidas que estão obstruindo o anticorpo. Hibridomas que secretam um anticorpo monoclonal são capazes de inibir ^{125}I-IGF-1 que se liga às células

que expressam IGF-1R são então detectados. Tais hibridomas são então injetados nas cavidades peritoneais de ratos nus para produzir ascites que contêm concentrações elevadas (>1 mg/ml) do anticorpo monoclonal anti-IGF-1R. Os anticorpos monoclonais resultantes podem ser purificados pela precipitação do sulfato de amônia seguida pela cromatografia de exclusão em gel, e/ou a cromatografia de afinidade baseada na ligação do anticorpo aos métodos similares da proteína G. Pode ser usado para gerar anticorpos humanos em ratos transgênicos. Ver, por exemplo, Chen et al., 1993, Internal. Immunol. 5: 647-56; Chen et al, 1993, EMBO J. 12: 821-30; Choi et al, 1993, Nature Genetics 4: 117-23; Fishwild et al., 1996, Nature Biotech. 14: 845-51; Harding et al., 1995, Annals New York Acad. Sci.; Lonberg et al, 1994, Nature 368: 856-59; Lonberg, 1994, Handbook Exper.I Pharmacol. 113: 49-101; Lonberg et al, 1995, Internal Rev. Immunol. 13: 65-93; Morrison, 1994, Nature 368: 812-13; Neuberger, 1996, Nature Biotech. 14: 826; Taylor et al., 1992, Nuc. Acids Res. 20: 6287-95; Taylor et al., 1994, Internal Immunol. 6: 579-91; Tomizuka et al., 1997, Nature Genetics 16: 133-43; Tomizuka et al., 2000, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 97: 722-27; Tuaillon et al., 1993, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 90: 3720-24; Tuaillon et al., 1994, J. Immunol. 152: 2912-20; Russel et al., 2000, Infection and Immunity April 2000: 1820-26; Gallo et al., 2000, Eur. J. Immunol. 30: 534-40; Davis et al., 1999, Cancer Metastasis Rev. 18:421-25; Green, 1999, J. Immunol. Methods 231:11-23; Jakobovits, 1998, Advanced Drug Delivery Rev. 31:33-42; Green et al, 1998, J. Exp. Med. 188: 483-95; Jakobovits, 1998, Exp. Opin. Invest. Drugs 7: 607- 14; Tsuda et al, 1997, Genomics 42: 413-21; Mendez et al, 1997, Nature Genetics 15: 146-56; Jakobovits, 1996, Weir's Handbook of Experimental Immunology, The Integrated Immune System Vol. IV, 194.1- 194.7; Mendez e/ α/.,1995, Genomics 26: 294-307; Jakobovits, 1994, Current Biol. 4: 761-63; Arbones, 1994, Immunity 1: 247-60; Green et al, 1994, Nature Genetics 7: 13-21; Jakobovits et al, 1993, Nature 362: 255-58; Jakobovits et al, 1993,. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 90: 2551-55.

EXEMPLO 2:

Isolamento de um IGF-1R (ECD)-C3-mulgG1 humano.

531

Este exemplo fornece um método de produção de um fragmento solúvel de IGF-1R utilizado para aumentar anticorpos.

Clonagem de pDSRα:huIGF-1R(ECD)-C3-muIgG1Fc.

Primers 2830-36:

5' AGCAAGCTTCCACCATGAAGTCTGGCTCCGGAGGAGG 3' SEQ ID NO:256) e 2830-38:

5' ATTTGTCGACTTCGTCCAGATGGATGAAGTTTTCAT 3', SEQ ID NO:257) foram usados para amplificar a seqüência extracelular humana do cDNA do domínio de IGF-1R (1-906). Os primers incluíam uma seqüência de iniciação da tradução Kozak (sublinhada acima) que precede o códon de inicialização, sítios de restrição para subseqüente subclonagem, e um sítio caspase-3, no qual é inserido próximo do domínio extracelular c-terminal. O PCR foi executado em um Perkin Elmer 2400 (Perkin Elmer, Torrance, CA) sob as seguintes condições: 1 ciclo em 95° C por 2 minutos, 23 ciclos em 95° C por 30 segundo, 58.5° C por 30 segundos, e 72° C por 3 minutos e 1 ciclo em 72° C por 10 minutos. As condições finais da reação fram com tampão YKpfu TURBO® (Stratagene, La Jolla, CA), 200 µM dNTPs, 2 µM cada primer, 5 Upfu TURBO® (Stratagene) e DNA do molde de 1 ng. O produto de PCR foi purificado usando uma coluna de Clontech Nucleospin (Clontech, Palo Alto, CA) de acordo com as instruções dos fabricantes, digerida com Hind III e Sal I (Roche, Indianapolis, IN) e purificado em gel. O IGF-1R humano inserido foi ligado a pDSRα-muIgGI e digerido por *Hind* III/ *Sal* I. A integridade da inserção foi confirmada pela seqüência do DNA. A seqüência da proteína codificada resultante pela estrutura de leitura aberta (IGF-1R-C3-muFc) é mostrada na figura 10. O vetor de expressão expressão final, pDSRα: huIGF1R (ECD) -C3-muIgGIFc é descrito na tabela 1.

Tabela 1

PDSRα:huIGF1R(ECD)-CS-muIgG1Fc

plasmídio base

Número par:

11-	HuIGF1R (sítio caspase 3)-muIgG1Fc

532

3496	atgaagtctggctccggaggagggtccccgacctcgctgtgggggctcctgtttctctccgccgcgc tctcgctctggccgacgagtggagaaatctgcgggccaggcatcgacatccgcaacgactatca gcagctgaagcgcctggagaactgcacggtgatcgagggctacctccacatcctgctcatctcca aggccgaggactaccgcagctaccgcttccccaagctcacggtcattaccgagtacttgctgctgtt ccgagtggctggcctcgagagcctcggagacctcttccccaacctcacggtcatccgcggctgga aactcttctacaactacgccctggtcatcttcgagatgaccaatctcaaggatattgggctttacaac ctgaggaacattactcgggggccatcaggattgagaaaaatgctgacctctgttacctctccact gtggactggtccctgatcctggatgcggtgtccaataactacattgtggggaataagcccccaaag gaatgtggggacctgtgtccagggaccatggaggagaagccgatgtgtgagaagaccaccatc aacaatgagtacaactaccgctgctggaccacaaaccgctgccagaaaatgtgcccaagcac gtgtgggaagcgggcgtgcaccgagaacaatgagtgctgccaccccgagtgcctgggcagctg cagcgcgcctgacaa (SEQ ID NO:258)
3507 a 4391	Um sinal de transcrição terminação/poliadenilação de α-subunidade do hormônio glicoproptéico hipofisário bovino (α-FSH). (Goodwin e outros, 1983, Nucleic Acid Res. 11:6873-82. Número de acesso no Genbank X000004).
4600 a 5163	Um minigene de dihidrofolato redutase do rato (DHFR) contendo o promotor DHFR endógeno do rato, seqüências de codificação de cDNA e sinais de de transcrição terminação/poliadenilação. (Gasser e outros, 1982, Proc. Natl. Acd. USA, 79:6522-6, Numberg e outros, 1980, Cell, 19:355-64; Setzer e outros, 1982, j. Biol. Chem 257:51437 McGrogan e outros, 1985. J. Biol. Chem 260-2307-14)
6389 a 7246	Seqüência pBR322 contendo gene marcador da resistência a ampicilina e origem de replicação de plasmídio em E. coli (Número de acesso no Genbank J01749)
7459 a 7802	Um promotor inicial SV40, enhancer e origem de replicação (Takebe e outros, 1988, Mol. Biol. 8:464-72, Número de acesso no Genbank J02400.
7809 a 8065	Um elemento de enhancer transducional de domínio HTLV-1 LTR 9Seike e outros, 1983, Proc. Natl. Acd. USA, 80:3618-22, Número de

	acesso no Genbank J 02024.
8109 a 8205	Um íntron de SV40 16S, sinal splice de doadores/recptores 19S (Okayama e Berg, 1983, Mol Cell Biol.,3:280-9, Número de acesso no Genbank J02400).

533

Expressão do hu IGF-1R(ECD)-C3-mulgG1Fc.

Quinze microgramas do vetor de expressão: pDSRα:huIGFIR (ECD) -C3-mulgGIFc foi transfectada nas células AM-I/D CHOd- usando o reagente de lipofecção de LTI (PanVera Corp., Madison, WI), e em células cultivadas sob condições para permitir a expressão e a secreção da proteína nos meios celulares. Vinte e quatro colônias foram selecionadas após 10-14 dias no meio de seleção de DHFR (Dulbecco's Modified Eagles Medium (Invitrogen) suplementado com o soro fetal bovino 10% dializado, 1X penicilina-streptomicina (Invitrogen)) e níveis da expressão avaliados por West Blot. Para executar este ensaio, 0,5 ml do meio livre do soro foram adicionados às únicas células confluentes boas cultivadas em uma placa de 24 poços (Falcon). O meio condicionado foi recuperado após 48hs. As amostras por West blot foram corridas em gel de Tris-glicina 10% (Novex), e marcado em uma membrana de nitrocelulose de 0,45 µm (Invitrogen), usando mini células trans-blot (Biorad). As membranas marcadas foram incubadas com o anticorpo de coelho anti-rato IgG Fc, conjugadas com peroxidase de horseradish (Pierce). O clone que expressa nível mais elevado de IGF-1 R (ECD) - C3-mulgG IFc foi expandido no meio da seleção de DFfFR e 2 x 10^7 células foram inoculadas em 50 frascos cilíndricos cada (Corning) em 250 ml DMEM (de alta-glicose (Invitrogen), 10% FBS dializado (Invitrogen), 1 x glutamina (Invitrogen), 1 x aminoácidos não essenciais (Invitrogen), 1 x piruvato de sódio (Invitrogen). O meio era gaseificado com 10% CO2/ar balanceado por 5 segundos antes de tampar o frasco. Os frascos foram mantidos à 37°C centrifugado à 0,75 rpm.

Quando as células alcançaram aproximadamente 85-90% de confluência (após aproximadamente 5-6 dias na cultura), meio de crescimento foi descartado, as células lavadas com 100 ml PBS e 200 ml de meio de produção foi adicionado (50% DMEM) (de Invitrogen/50% F12 (Invitrogen), 1 x glutamina (Invitrogen), 1 x

aminoácidos não-essenciais (Invitrogen), 1 x piruvato de sódio (Invitrogen), 1,5% DMSO (Sigma)). O meio condicionado foi coletado e substituído em intervalos de uma semana. Os 30 litros resultantes do meio condicionado foram filtrados através de 0,45 µm de acetato de celulose (Corning, Acton, MA).

534

Purificação do hu IGF-1RCECDVC3-muIgG1Fc

O filtrado resultante do meio condicionado foi concentrdao em 20 dobras usando um cartucho de corte-espiral (peso molecular de corte = kDa 10), então diluído 1:1 com KCl3M, glicina 1M, pH 9,0 levando a uma concentração final de sal KCl 1,5 M, glicina 0.5 M, pH 9.0. Esta amostra foi aplicada a uma coluna de rProtein Sepharose (Amersham Pharmacia Biotech, Upsália, Sweden) que foi equilibrada em KCl 1.5 M, glicina 0,5 M, pH 9.0. A coluna foi lavada com 40 volumes da coluna do mesmo tampão, a seguir foi eluída com 20 volumes da coluna de glicina-HCl 0,1 M, pH 2,8. As frações de 5mL foram coletadas e neutralizadas imediatamente com 1 mL de 1 M Tris-HCl, pH 7.5. As frações que contêm o huIGFIR (ECD) - muIgGFc de C3- foram identificadas por SDS-PAGE, , e dializadas junto ao tampão fosfato salino. O rendimento foi de 2,4 mg/L do meio condicionado. As espécies principais da proteína detectadas foram as cadeias α e β de Fc murino, cada qual pareceram ser corretamente glicolizados baseados em seus pesos moleculares elevados e heterogêneos. IGF-1R não processado (ECD), assim como IGF-1R glicolizado, mas não proteoliticamente clivado (CED), também presente na preparação. O deslocamento nas faixas de pesos moleculares mais elevados sob condições de não redução indica que as pontes bissulfeto juntaram as cadeias α e β. O alinhamento em seqüência do amino-terminal do produto final indicou que 60% da proteína foi processado corretamente entre cadeias α e β de IGF-1R (ECD), enquanto 40% permaneceram não processados.

EXEMPLO 3:

Isolamento de INSR (ECD) – muIgG1 humano

Este exemplo apresenta um método de clonagem e de expressar um fragmento solúvel do receptor de insulina humana.

Clonagem do pDSRα: huTNSR (ECD) – muIgG1Fc

Primers 2830-40:

5 ' AGCAAGCTTCCACCATGGGCACCGGGGGCCGG 3 ' SEQ ID NO : 259

(sítio Hind III sublinhado) e 2830-41:

5 ' ATTTGTCGACTTTTGCAATATTTGACGGGACGTCTAA 3 ' SEQ ID NO : 260

(sítio *Sal* I sublinhado) foram usados para amplificar o domínio extracelular humano de INSR (1-929) e de plamídio parental INSR que codifica o formato B da variante splice INSR (Ullrich et al., 1985, Nature 313:756-61; Ebina et al., 1985, Cell 40:747-58). Os primers incluíram uma seqüência de iniciação de tradução de Kozak que precede os sítios do códon de inicialização para a subseqüente sub-clonagem. PCR foi executado em um Perkin Elmer 2400 sob as seguintes condições: 1 ciclo à 95° C por 2 minutos, 32 ciclos à 95° C por 30 segundos, 58,5° C por 30 segundos, e 72° C por 3 minutos, e 1 ciclo à 72° C por 10 minutos. As condições finais da reação eram 1X tampão *pfu* TURBO®, 200 µM de dNTPs, 2 µM de cada primer, 5 U *pfu* TURBO® (Stratagene) e 10 ng de molde de DNA. O produto de PCR foi purificado usando uma coluna de NUCLEOSPIN® (BD Biosciences Clontech, Palo Alto, CA) de acordo com as instruções do fabricante, digeridas com *Hind* III e *Sal* I (Roche), e o gel purificado antes da ligação com *Hind* III/*Sal* I digerido por pDSRα-muIgG1. A integridade da inserção foi confirmada pelo alinhamento da seqüência do DNA. A seqüência da proteína do INSR-muFc é mostrada na figura 11. O vetor final de expressão é descrito na tabela 2.

Tabela 2

plasmídio base

Número par:

11-3550	HuINSR-muIgG1Fc atgggcaccgggggccggcgggggcggcggccgcgccgctgctggtggcggtggccgcgctgc tactgggcgccgcgggccacctgtaccccggagaggtgtgtcccggcatggatatccggaacaacc tcactaggttgcatgagctggagaattgctctgtcatcgaaggacacttgcagatactcttgatgttcaa aacgaggcccgaagatttccgagacctcagtttccccaaactcatcatgatcactgattacttgctgctc ttccgggtctatgggctcgagagcctgaaggacctgttccccaacctcacggtcatccggggatcacg actgttctttaactacgcgctggtcatcttcgagatggttcacctcaaggaactcggcctctacaacctga

	tgaacatcacccggggttctgtccgcatcgagaagaacaatgagctctgttacttggccactatcgact ggtcccgtatcctggattccgtggaggataatcacatcgtgttgaacaaagatgacaacgaggagtgt ggagacatctgtccgggtaccgcgaagggcaagaccaactgccccgccaccgtcatcaacgggc agtttgtcgaacgatgttggactcatagtcactgccagaaagtttgcccgaccatctgtaagtcacacg gctgcaccgccgaaggcctctgttgccacagcgagtgcctgggcaactgttctcagcccgacgaccc caccaagtgcgtggcctgccgcaacttctacctggacggcaggtgtgtggagacctgcccgcccccg tactaccacttccaggactggcgctgtgtgaacttcagcttctgccaggacctgcaccacaaatgcaa gaactcgcggaggcagggctgccaccagtacgtcattcacaacaacaagtgcatccctgagtgtcc ctccgtacacgatgaattccagcaacttgctgtgcaccccatgcctgggtccctgtcccaaggtgtgcc acctcctagaaggcgagaagaccatcgactcggtgacgtctgcccaggagctccgaggatgcacc gtcatcaacgggagtctgatcatcaacattcgaggaggcaacaatctggcagctgagctagaagcc aacctcggcctcattgaagaaatttcagggtatctaaaaatccgccgatcctacgctctggtgtcacttt ccttcttccggaagttacgtctgattcgaggagagaccttggaaattgggaactactccttctatgccttg gacaaccagaacctaaggcagctctgggactggagcaaacacaacctcaccaccactcagggga aactcttcttccactataaccccaaactctgcttgtcagaaatccacaagatggaagaagtttcaggaa ccaaggggcgccaggagagaaacgacattgccctgaagaccaatggggacaaggcatcctgtga aaatgagttacttaaattttcttacattcggacatcttttgacaagatcttgctgagatgggagccgtactg gccccccgacttccgagacctcttggggttcatgctgttctacaaagaggcccttatcagaatgtgac ggagttcgatgggcaggatgcgtgtggttccaacagttggacggtggtagacattgacccacccctga ggtccaacgaccccaaatcacagaaccacccagggtggctgatgcggggtctcaagccctggacc cagtatgccatctttgtgaagaccctggtcacctttcggatgaacgccggacctatggggccagagtg acatcatttatgtccagacagatgccaccaaccctctgtgcccctggatccaatctcagtgtctaactc atcatcccagattattctgaagtggaaaccaccctccgaccccaatggcaacatcacccactacctg gttttctgggagaggcaggcggaagacagtgagctgttcgagctggattattgcctcaaagggctgaa gctgccctcgaggacctggtctccaccattcgagtctgaagattctcagaagcacaaccagagtgag tatgaggattcggccggaaatgctgctcctgtccaaagacagactctcagatcctgaaggagctgga ggagtcctcgtttaggaagacgtttgagattacctgcacaacgtggttttcgtccccagaaaaacctctt caggcactggtgccgaggaccctaggccatctcggaaacgcaggtcccttggcgatgtt
3557 a	Um sinal de transcrição terminação/poliadenilação de α-subunidade do hormônio glicoprotéico hipofisário bovino (α-FSH). (Goodwin e outros,

536

4441	1983, Nucleic Acid Res. 11:6873-82. Número de acesso no Genbank X000004).
4446 a 5586	Um minigene de dihidrofolato redutase de rato (DHFR) contendo o promotor DHFR endógeno de rato, seqüências de codificação de cDNA e sinais de de transcrição terminação/poliadenilação. (Gasser e outros, 1982, Proc. Natl. Acd. USA, 79:6522-6, Numberg e outros, 1980, Cell, 19:355-64; Setzer e outros, 1982, j. Biol. Chem 257:51437 McGrogan e outros, 1985. J. Biol. Chem 260-2307-14)
5594 a 6241	Seqüência pBR322 contendo gene marcador da resistência a ampicilina e origem de replicação de plasmídio em E. coli (Número de acesso no Genbank J01749).
7513 a 7856	Um promotor inicial SV40, enhancer e origem de replicação (Takebe e outros, 1988, Mol. Biol. 8:464-72, Número de acesso no Genbank J02400.
7843 a 8119	Um elemento de enhancer transducional de domínio HTLV-1 LTR (Seike e outros, 1983, Proc. Natl. Acd. USA, 80:3618-22, Número de acesso no Genbank J 02029
8163 a 8254	Um íntron de SV40 16S, sinal splice doador/receptor 19S (Okayama e Berg, 1983, Mol Cell Biol.,3:280-9, Número de acesso no Genbank J02400).

537

Expressão do hu INSR (ECD) -C3-mulgG1Fc

As células AM-1/D CHOd- foram transfectadas com 15 µm de pDSRa linearizado do vetor da expressão: huINSR (ECD) - mulgGIFc usando o reagente de lipofecção de FUGENE™ 6 (Roche Diagnóstico Corp., Indianapolis, IN), cultivado então sob condições para permitir a expressão e a secreção da proteína no meio celular. As colônias foram selecionadas e analisadas como descrito acima.

Purificação do hu INSR (ECD) - C3-mulgG1Fc

O meio condicionado filtrado contendo o huINSR (ECD) - mulgGFc foi

concentrado usando um cartucho espiral (peso molecular de corte = 10KDa), diluído então 1:1 com KCl 3M, glicina 1 M, pH 9.0 para chegar a uma concentração final de sal KCl 1,5 M, glicina 0,5 M, pH 9.0. Esta amostra foi aplicada a uma coluna Sepharose de rProteina (Pharmacia) que foi equilibrada no KCl 1,5 M, glicina 0,5 M, pH 9.0. A coluna foi lavada com 40 volumes da coluna do mesmo tampão, a seguir foi eluida com 20 volumes de glicina-HCl 0,1 M, pH 2,8 da coluna. As frações de 5mL foram coletadas e neutralizadas imediatamente com 1mL de Tris-HCl 1 M, pH 7,5. As frações que continham o huINSR (ECD) - muIgGFc foram identificadas por SDS-PAGE e dializadas junto ao tampão fosfato salino. O rendimento foi de 0,9 mg/L do meio condicionado. As espécies principais da proteína eram as cadeias α e β e Fc murino. Cada uma destas espécies pareceu estar corretamente glicolizadas baseadas no seu elevado peso molecular e heterogêneo. O INSR(ECD) não processado foi assim como INSR glicolizado, mas não proteoliticamente clivado, também presente na preparação. O deslocamento nas faixas dos pesos moleculares mais elevados sob condições de não redução indicou que pontes bissulfeto ligaram as cadeias α e β. O alinhamento em seqüência do Amimo-terminal do produto final indicou que 87% da proteína foi processada corretamente entre as cadeias α- e as β de INSR (ECD), enquanto 13% permaneceu não procesada.

EXEMPLO 3:

Seleção inicial para fago Fab Anti-IGF-1R

Este exemplo fornece um método de identificar anticorpos anti-IGF-1R.

Uma biblioteca Quest Q Fab do alvo ("the TQ library"; Target Quest, Maastricht, the Netherlands), foi construída usando linfócitos periféricos do sangue de quatro doadores saudáveis e linfócitos do baço de um paciente com carcinoma gástrica, foram obtidos. A diversidade da biblioteca era de 3.7×10^{10} clones, contendo $3x10^9$ de cadeias pesadas. A fonte, os métodos de seleção e a caracterização da biblioteca foram publicados (e Raaid e outros, 1999, J. Biol Chem 274:18218). Dinabeads (200 µl) M-450 sem revestimento (catálogo # 140.02, Dynal, Lake Sucess, NY) foram lavados 3 vezes com PBS, resuspendido

539

em 200 µl de IGF-1R (ECD) - C3-mFc a uma concentração de 0,5 µM em PBS, e incubados à 4° C em um roteador overnight. Os grânulos revestidos com IGF-1R (ECD) – C3-mFc foram lavadas 3x com 1 ml do leite em pó sem gordura 2% (M) em PBS (2% MPBS), e então inibidas com 1 ml de 2% MPBS na temperatura ambiente por 1 hora. Em paralelo, 750 µl da biblioteca de TQ (pfu 4xlO12) foi misturado com 250 µl 8% MPBS na temperatura ambiente de 30 minutos a 1 hora. 500 µl de grânulos bloqueadas foram transferidas para um outro tubo de microcentrifugação e separado da solução de inibição em um separador magnético. A mistura dos fagos pré-bloqueados foi adicionada às partículas bloqueadas e incubada por 90 minutos em um roteador a temperatura ambiente. Fagos ligados às partículas foram separados dos fagos não ligados, e então lavados 6x com 1ml 2% MPBS/0.1%Tween 20, 6x com 1ml de PBS/ 0.1%Tween 20, 2x com PBS, com uma mudança dos tubos entre soluções diferentes de lavagem. O fago ligado foi então eluído com 1 ml de TEA 0.1M (pH 11) por 10 minutos, então separados imediatamente dos grânulos e neutralizados com 0,5 ml de Tris.HCl 1 M. O pool de fago eluído foi misturado com 4 ml de caldo 2x YT (1O g de extrato de fermento, 16 g de bacto-triptona, 5 g de NaCl por litro de água) e 5 ml de cultura bacteriana TGI (O.D. $_{590}$ aproximadamente 0.5) em um tubo cônico de 50 ml. A mistura de infecção foi incubada à 37° C em uma incubadora por 30 minutos, e então centrifugada à 3500 RPM por 20 minutos. O precipitado celular foi resuspendido em 1500 µl de caldo 2xYT-CG e 300 µl foram espalhados em cada uma de cinco placas 2xYT-CG (caldo 2x YT contendo 100 µg/ml de carbenicilina e 2% de glicose). Após 20 horas de incubação à 30° C, 4 ml de 2x YT-AG foram adicionados a cada placa e as células foram recuperadas com uma lâmina da placa. Esta etapa foi repetida três vezes. Uma pequena parte das células recuperadas foi usada para o resgate do fago (ver abaixo). A suspensão restante da célula foi centrifugada à 3500 rpm por 20 minutos. O precipitado celular foi suspenso em uma quantidade de 50% de glicerol, aproximadamente metade do volume do precipitado celular e armazenado à -80° C.

A fim de resgatar o fago, a suspensão celular amplificada da placa foi usada

para inocular 40 ml de 2x YT-CG a um OD_{590} de aproximadamente 0,05. A cultura foi incubada à 37° C em um shaker para OD_{590} 0,5. A cultura em fase log foi infectada com o fago ajudante M13KO7 (GIBCO BRL, Gaithersburg, MD, catálogo # 18311 - 019, 1.1 x 1011 pfu/ml) em M.O.I. 20 seguida pela incubação à 37° C por 30 minutos. As células infectadas foram centrifugadas à 4000 RPM por 20 minutos. O precipitado celular foi re-suspendido em 200 ml de 2xYT-CK (100 µg/ml carbenicilina e 40 µg/ml de kanamicina) e transferido a dois frascos de 250 ml e incubados à 30° C com agitação à 270 rpm por 20 horas. A cultura overnight foi centrifugada à 4000 rpm por 20 minutos para remover os restos celulares. A centrifugação foi repetida para assegurar a remoção do resto celular. Aproximadamente 1/5 de volume da solução de PEG (20% de PEG 8000, NaCl 2.5 M) foi adicionado ao sobrenadante para precipitar as partículas de fago. A mistura foi incubada no gelo no mínimo por 1 hora, seguida por centrifugação à 4000 rpm por 20 minutos para coletar as partículas de fago precipitadas. O precipitado de fago foi re-suspendido em 1 ml de PBS e foi transferida a um tubo do microcentrifugação. A suspensão de fago foi deixada no gelo por 1 hora para permitir a suspensão completa de partículas fago, e clarificado por centrifugação à 14.000 rpm por 2 minutos para remover os restos celulares residuais. A etapa de precipitação do fago foi repetida. O precipitado de fago final foi suspenso em PBS após a clarificação. A suspensão de salvo salvada foi usada na rodada seguinte da seleção.

Quatro rodadas da seleção foram executadas que incluíram alterações de vários parâmetros de ligação padrão. A segunda rodada da seleção foi idêntica a primeira rodada da seleção. As variações no reagente fago do número e da eluição da entrada foram introduzidas nas rodadas três e quatro. Para a rodada três da seleção, o pfu $5xl0^{11}$ de fagos foi selecionado e os fagos ligados foram eluídos com 1 µM IGF-1 (catálogo # 13769, Sigma, St Louis, MO) ou com uma concentração 1 µM de um anticorpo quimérico αIR3-huFc para render duas rodadas - três pools, de TQ4-3IS e TQ4-3CA. A quarta rodada da seleção foi realizada em pools de fagos resgatados de ambas rodadas e três pools. Duas

541

rodadas de seleção negativa com rato IgG revestido com DYNABEADS® Fc (Dynal Biotech, Oslo, Noruega) foram incluídas para remover os ligantes do rato Fc antes da seleção atual de IGF-1R. O tempo de incubação para a seleção negativa foi de 30 minutos cada uma. O *pfu* $3.78x10^{11}$ do pool de TQ4-3IS e o *pfu* $3.75x10^{12}$ do pool de TQ4-3CA foram selecionados separadamente. O fago ligado foi eluído com 1 μM IGF-2 (catálogo # .12526, Sigma, St Louis, MO) para render duas rodadas-4 pools, TQ4-4ISI2 e TQ4-4CAI2. A seqüência de aproximadamente 96-192 inserções do DNA fagos foi determinada em cada etapa de eluição.

Em alguns casos, uma seleção secundária foi feita. As misturas do DNA de Phagemid da biblioteca total de TQ, e o fago selecionado amplificaram após diversas rodadas da seleção junto a IGF-1R, foram preparados usando um kit do DNA Maxiprep de acordo com as instruções do fabricante (Qiagen, Valença, CA). Todas as quatro preparações do DNA foram digeridas com Asc I e com EcoR I (New England Biolab, Beverly, MA). Os dois fragmentos resultantes Asc I/EcoR I foram separados em um preparado de géis de 0,5% de agarose. Os fragmentos de 2.1 kb que continham cadeias pesadas foram purificados em gel à partir de fagos selecionados de IGF-1R. Os fragmentos de 3.9 kb que continham as cadeias leves e a parte do vetor de pCES1 foram purificados em gel à partir da biblioteca total TQ de DNA. Os fragmentos de 2.1 kb foram ligados aos fragmentos de 3.9 kb da amostra da biblioteca de TQ de DNA na relação de 3:1. O DNA ligado foi precipitado e foi usado para transformar células TGI por eletroporação. O tamanho da biblioteca resultante da biblioteca secundária misturada com a cadeia leve foi de $8.8xl0^{8}$. Após sequenciar 96 clones escolhidos aleatoriamente, 76 seqüências de cadeias leves originais foram obtidas, indicando que a tentativa de misturas das cadeias leves foram bem sucedidas.

A condição de ligação, lavagem e eluição para selecionar a biblioteca misturada de cadeia leve foi essencialmente a mesma que decrita para a separação inicial. Entretanto, diversas variações foram incluídas para aumentar a pressão da seleção para a amplificação de ligantes de IGF-1R com afinidades mais elevadas, especialmente aquelas com taxas significativamente mais lentas.

542

Estes parâmetros foram: número mais elevado da entrada de fago (*pfu* 2-2,7 x 10^{13}), menor volume de partícula (100 µl para rodada um, 50 µl para a rodada dois, e 25 µl para a rodada três), e o tempo específico de eluição estendido até 20 horas. Os tampões de eluição foi TEA 0,1 M para rodada um (RDl), 1 µM IGF-1 em 0.4% MPBS para RD2 e 1 µM IGF-1 ou IGF-2 em 0.4% MPBS para RD3. Em RD2 e em RD3, os ligantes que foram eluídos em 15 minutos ou 2 horas foram rejeitados. A eluição foi continuada e os fagos eluídos foram coletados após 8-10 horas e novamente após 20 horas.

A Seperação do fago fab por ELISA

Em uma placa de 96 poços de 2 ml, 480 µl/poço de caldo 2xYT-CG foi inoculado com 20 µl de culturas overnight de clones do indivíduo, em seguida incubadas à 37° C, 300 rpm por 3 horas. Em cada poço, 50 µl de fago ajudante M13KO7 diluído 1: 3 foi adicionado para infectar as células. O bloco foi incubado à 37° C sem agitação por 30 minutos, e foi agitado então delicadamente por outros 30 minutos à 150 rpm. O bloco foi centrifigado à 3600 rpm por 20 minutos para precipitar as células infectadas. O precipitado celular de cada poço foi suspenso em 480 µl de 2xYT-CK (caldo 2xYT que contêm 100 µg/ml de carbenicilina e 40 µg/ml de kanamicina), e incubadas à 30° C durante a noite por aproximadamente 20 horas. Os restos da célula foram separados por centrifugação à 3600 rpm por 20 minutos. O sobrenadante de fago resgatado foi usado no fago em ELISA para verificar se ocorreu a ligação à clones individuais de IGF-1R-específico, da reação cruzada-INSR ou de ratos Fc .

Três kits de Nunc MaxiSorb Immunoplates foram revestidos com placa de 100 µl de IGF-1R-C3-mFc em 5 µg/ml, 5 µg/ml de INSR-mFc, ou rato IgGl (catálogo # 010-0103, Rockland, Gilbertsville, PA) em 2 µg/ml de PBS, respectivamente, à 4° C overnight. As placas revestidas foram lavadas 3x com PBS em 300 µl/poço. As placas lavadas foram obstruídas com 300 µl/poço com 2% MPBS na temperatura ambiente por uma hora. Enquanto isso, os fagos resgatados dos clones individuais foram pré-obstruídos misturando 170 µl do fago resgatado com 170 µl de MPBS 4%. As placas obstruídas foram lavados 5x com

543

300 µl/poço TBST (TBS: 10 milímetros Tris-HCl, pH 7.5, EDTA de 1 milímetro, 150 milímetros de NaCl; Tween-20. 0.1%). 100 µl/poço das diluições do fago pre-obstruído foram distribuídos a cada kit de placa revestida, e foram incubadas à temperatura ambiente em um balancèador por 90 minutos. As placas foram lavados 5x com 300 µl/poço TBST. 100 µl/poço de anti-M13-HRP em 2% MPBS (diluição 1: 3000, catálogo número 27-9421-01, Amersham Pharmacia Biotech) foram distribuídos, e as placas foram incubadas à temperatura ambiente no balanceador por uma hora. As placas foram 5x lavadas com 300 µl/poço TBST. 100 µl/poço do substrato 1-Step™ ABTS (Pierce Biotechnology, Rockford, IL, catalog number 37615) foram adicionados. As placas foram incubadas por uma hora. OD_{405} foi medido para a detecção do sinal.

Os fagos que apresentam anticorpos não exibiram essencialmente nenhuma reação cruzada com o receptor de insulina e o domínio Fc de ratos. O sinal observado em IGF-1R ELISA é conseqüentemente específico para o domínio extracelular de IGF-1R. Os resultados dos ensaios similares para quatro anticorpos que apresentam fagos são mostrados na figura 14.

As inserções do DNA de IGF-1R positivo, INSR e IgG1 negativo, e clones foram seqüenciados. Cinqüenta e duas seqüências originais de Fab foram identificadas, tendo as seguintes combinações das seqüências de domínios variáveis de cadeia leve e de seqüências de domínios variáveis de cadeia pesada: L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, LI11HI11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20, H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50, L51H51, e L52H52, onde "Lx" e "Hx" indica o número de domínio variável de cadeia leve e "Hx" indica o número de domínio variável de cadeia pesada da figura 1. "X" apresenta seqüências do polinucleotídeo de cada uma destes domínios variáveis de cadeia leve e pesada. Figuras 2 e 3 apresentam as seqüências correspondentes do aminoácido.

544

EXEMPLO 4:

Subclonagem de VH e de VL em vetores de expressão de IgG1.

Este exemplo apresenta um método de sub-clonagem do domínio variável previamente identificado seqüenciado em um vetor de expressão de IgG1.

Construção do pDSR α 20 e pDSRα20:hIgG1C_H

pDSRα20: o vetor de expressão do hIgGIC$_H$ (WO 90/14363) é um derivado de pDSR19: hIgGIC$_H$ (ver pedido de patente provisional US 60/370,407, depositado em 5 de abril de 2002, "*Human Anti-OPGL Neutralizing Antibodies As Selective OPGL Pathway Inhibitors*" incorporado aqui pela referência em sua totalidade). O plasmídio pDSRcd9:hIgG1C_H codificou uma região variável do rato/região constante IgG1 do ser humano (rVh/hCh1). O plasmídio foi construído pela ligação de três partes da região variável do anticorpo do rato *Xba* I e de *Bsm*B I, produto de PCR, a região constante humana de IgGI (CH_1, dobra, e domínios C_{H2} e C_{H3}) derivada da clivagem de *Sal* I e pelo isolamento em gel do fragmento *Bsm*B I e *Sal* I do plasmídio linear pDSRαI9: hIgG1 C_H (extremidades *Hind* III e *Bsm*B I) e um pDSRα19 linearizadas com extremidades de *Xba* I e *Sal* I. pDSRα20 foi produzido modificando o nucleotídeo 2563 em pDSRα19 de uma guanosina para uma adenosina por mutagênese sítio dirigida. O vetor de expressão da cadeia pesada, pDSRα20: hIgGIC$_H$ região variável do rato / IgG1 região constante do ser humano (rVh/hCh1), é de 6163 pares de base e contêm 7 regiões funcionais descritas na tabela 3.

Tabela 3

Plasmídio Base número par

2 a 881	Um sinal de transcrição terminação/poliadenilação de α-subunidade do hormônio glicoproptéico pituitário bovino (α-FSH). (Goodwin e outros, 1983, Nucleic Acid Res. 11:6873-82. Número de acesso no Genbank X000004).
882 a 2027	Um minigene de dihidrofolato redutase de rato (DHFR) contendo o promotor DHFR endógeno de rato, seqüências de codificação de cDNA e

	sinais de de transcrição terminação/poliadenilação. (Gasser e outros, 1982, Proc. Natl. Acd. USA, 79:6522-6, Numberg e outros, 1980, Cell. 19:355-64; Setzer e outros, 1982, j. Biol. Chem 257:51437 McGrogan e outros, 1985. J. Biol. Chem 260-2307-14)
2031 a 3947	Seqüência pBR322 contendo gene marcador da resistência a ampicilina e origem de replicação de plasmídio em *E. coli* (Número de acesso no Genbank J01749).
3949 a 4292	Um promotor inicial SV40, enhancer e origem de replicação (Takebe e outros, 1988, Mol. Biol. 8:464-72, Número de acesso no Genbank J02400.
4299 a 4565	Um elemento de enhancer transducional de domínio HTLV-1 LTR (Seike e outros, 1983, Proc. Natl. Acd. USA, 80:3618-22, Número de acesso no Genbank J 02029
4574 a 4730	Um íntron de SV40 16S, sinal splice de doador/receptor 19S (Okayama e Berg, 1983, Mol Cell Biol.,3:280-9, Número de acesso no Genbank J02400).
4755 a 6158	O cDNA de cadeia pesada rVh/hCh1 entre os sítios *Xba*I e *Sal*I. Essas seqüências de fragmentos de cadeia pesada são mostradas abaixo (SEQ ID NO: 262) com as seqüências dos sítios de restrição sublinhados. *Xba*I TTTTCATAAA AGGTGTCCAG TGTGAGGTAG AACTGGTGGA GTCTGGGGGC GGCTTAGTAC AACCTGGAAG GTCCATGACA CTCTCCTGTG CAGCCTCGGG ATTCACTTTC AGAACCTATG GCATGGCCTG GGTCCGCCAG GCCCCAACGA AGGGTCTGGA GTGGGTCTCA TCAATTACTG CTAGTGGTGG TACCACCTAC TATCGAGACT CCGTGAAGGG CCGCTTCACT ATTTTTAGGG ATAATGCAAA AAGTACCCTA TACCTGCAGA TGGACAGTCC GAGGTCTGAG GACACGGCCA CTTATTTCTG TACATCAATT

546

TCGGAATACT GGGGCCACGG AGTCATGGTC

*Bsm*BI

ACCGTCTCTA GTGCCTCCAC CAAGGGCCCA TCGGTCTTCC
CCCTGGCACC CTCCTCCAAG AGCACCTCTG GGGGCACAGC
GGCCCTGGGC TGCCTGGTCA AGGACTACTT CCCCGAACCG
GTGACGGTGT CGTGGAACTC AGGCGCCCTG ACCAGCGGCG
TGCACACCTT CCCGGCTGTC CTACAGTCCT CAGGACTCTA
CTCCCTCAGC AGCGTGGTGA CCGTGCCCTC CAGCAGCTTG
GGCACCCAGA CCTACATCTG CAACGTGAAT CACAAGCCCA
GCAACACCAA GGTGGACAAG AAAGTTGAGC CCAAATCTTG
TGACAAAACT CACACATGCC CACCGTGCCC AGCACCTGAA
CTCCTGGGGG GACCGTCAGT CTTCCTCTTC CCCCCAAAAC
CCAAGGACAC CCTCATGATC TCCCGGACCC CTGAGGTCAC
ATGCGTGGTG GTGGACGTGA GCCACGAAGA CCCTGAGGTC
AAGTTCAACT GGTACGTGGA CGGCGTGGAG GTGCATAATG
CCAAGACAAA GCCGCGGGAG GAGCAGTACA ACAGCACGTA
CCGTGTGGTC AGCGTCCTCA CCGTCCTGCA CCAGGACTGG
CTGAATGGCA AGGAGTACAA GTGCAAGGTC TCCAACAAAG
CCCTCCCAGC CCCCATCGAG AAAACCATCT CCAAAGCCAA
AGGGCAGCCC CGAGAACCAC AGGTGTACAC CCTGCCCCCA
TCCCGGGATG AGCTGACCAA GAACCAGGTC AGCCTGACCT
GCCTGGTCAA AGGCTTCTAT CCCAGCGACA TCGCCGTGGA
GTGGGAGAGC AATGGGCAGC CGGAGAACAA CTACAAGACC
ACGCCTCCCG TGCTGGACTC CGACGGCTCC TTCTTCCTCT
ATAGCAAGCT CACCGTGGAC AAGAGCAGGT GGCAGCAGGG
GAACGTCTTC TCATGCTCCG TGATGCATGA GGCTCTGCAC
AACCACTACA CGCAGAAGAG CCTCTCCCTG TCTCCGGGTA

*Sal*I

AATGATAAGT CGAC

Plasmídio linear pDSRα20:hIgG1C_H foi preparado por digestão de plasmídio pDSR20: região variável do rato/região constante IgG1 do ser humano com as enzimas *Xba* I e o *Bsm*B I para remover a região variável do rato e purificado usando um kit de extração em Gel QIAquick. O plasmídio linear pDSRα20: hIgG1C_H contendo o domínio de região constante humana IgG1 de 1.0 kbp foi usado para receber seqüências codificadoras de cadeias pesadas variáveis anti- IGF-1R.

Construção de clones de expressão de anti-IGF-1R IgG1 de cadeia pesada

A seqüência codificadora para a região variável de anti-IGF-1R das cadeias pesadas foi amplificada do DNA do phagemid com primers complementares do oligonucleotídio. Os primers para a reação em cadeia da polimerase (PCR) foram projetados para incorporar um sítio *Hind* III, sítios de *Xba* I, seqüência de Kozak (CCACC) e seqüência do sinal (o peptidio traduzido é MDMRVP AQLLGLLLLWLRGARC; NO. SEQ DO ID: 263) na extremidade 5 ' da região variável, enquanto um sítio de *Bsm*B I foi adicionado na extremidade 3 ' do produto de PCR. Os produtos de PCR foram digeridos com *Xba* I e *Bsm*B I, e clonados então em *BsmB* I *Xba* I do vetor de expressão pDSRα20:hIgG1C_H contendo a região constante humana IgG1 (figura 13). Os vetores finais da expressão continham as sete regiões funcionais descritas na tabela 4.

Tabela 4

plasmídio base

números par:

2 a 881	Um sinal de transcrição terminação/poliadenilação de α-subunidade do hormônio glicoproptéico pituitário bovino (α-FSH). (Goodwin e outros, 1983, Nucleic Acid Res. 11:6873-82. Número de acesso no Genbank X000004).
882 a 2027	Um minigene de dihidrofolato redutase de rato (DHFR) contendo o promotor DHFR endógeno de rato, seqüências de codificação de cDNA e sinais de de transcrição terminação/poliadenilação. (Gasser e outros, 1982, Proc. Natl. Acd. USA, 79:6522-6, Numberg e outros, 1980, Cell,

548

	19:355-64; Setzer e outros, 1982, j. Biol. Chem 257:51437 McGrogan e outros, 1985. J. Biol. Chem 260-2307-14)
2031 a 3947	Seqüência pBR322 contendo gene marcador da resistência a ampicilina e origem de replicação de plasmídio em *E. coli* (Número de acesso no Genbank J01749).
3949 a 4292	Um promotor inicial SV40, enhancer e origem de replicação (Takebe e outros, 1988, Mol. Biol. 8:464-72, Número de acesso no Genbank J02400.
4299 a 4565	Um elemento de enhancer transducional de domínio HTLV-1 LTR (Seike e outros, 1983, Proc. Natl. Acd. USA, 80:3618-22, Número de acesso no Genbank J 02029
4574 a 4730	Um íntron de SV40 16S, sinal splice de doador/receptor 19S (Okayama e Berg, 1983, Mol Cell Biol.,3:280-9, Número de acesso no Genbank J02400).
4775 a 6185	A cadeia pesada IgG1 do cDNA entre os sítios *Xba*I e *Sal*I

Construção de clones de expressão de cadeia variável de anti-IGF-1R IgG1.

As cadeias leves codificadas no fago do anti-IGF-1R eram tanto da classe kappa ou lambda. Foram clonadas usando uma de duas possibilidades. Os primers complementares foram projetados para adicionar um sítio *Hind* III, um sítio *Xba* I, uma seqüência de Kozak (CCACC) e uma seqüência do sinal (o peptídio traduzido é MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC, NO. SEQ DO ID: 264) foram adicionados na extremidade 5' da região de codificação. Aquelas cadeias que tiveram regiões sem erros de codificação foram clonadas como produtos de comprimento total. As cadeias leves de comprimento total foram clonadas como fragmentos de *Xba* I e de *Sal* I no vetor de expressão pDSRα20. Os vetores finais da expressão continham sete regiões funcionais descritas na tabela 5.

Tabela 5

549

Plasmídio base

Número par:

2 a 881	Um sinal de transcrição terminação/poliadenilação de α-subunidade do hormônio glicoproptéico pituitário bovino (α-FSH). (Goodwin e outros, 1983, Nucleic Acid Res. 11:6873-82. Número de acesso no Genbank X000004).
882 a 2027	Um minigene de dihidrofolato redutase de rato (DHFR) contendo o promotor DHFR endógeno de rato, seqüências de codificação de cDNA e sinais de de transcrição terminação/poliadenilação. (Gasser e outros, 1982, Proc. Natl. Acd. USA, 79:6522-6, Numberg e outros, 1980, Cell, 19:355-64; Setzer e outros, 1982, j. Biol. Chem 257:51437 McGrogan e outros, 1985. J. Biol. Chem 260-2307-14)
2031 a 3947	Seqüência pBR322 contendo gene marcador da resistência a ampicilina e origem de replicação de plasmídio em *E. coli* (Número de acesso no Genbank J01749).
3949 a 4292	Um promotor inicial SV40, enhancer e origem de replicação (Takebe e outros, 1988, Mol. Biol. 8:464-72, Número de acesso no Genbank J02400.
4299 a 4565	Um elemento de enhancer transducional de domínio HTLV-1 LTR (Seike e outros, 1983, Proc. Natl. Acd. USA, 80:3618-22, Número de acesso no Genbank J 02029
4574 a 4730	Um íntron de SV40 16S, sinal splice de doador/receptor 19S (Okayama e Berg, 1983, Mol Cell Biol.,3:280-9, Número de acesso no Genbank J02400).
4775 a 5485	A cadeia leve kappa do cDNA entre os os sítios Xbal e Sall

Alguns clones kappa tinham erros em suas regiões contantes quando

comparado com a seqüência da região constante natural humana. Para eliminar essas discrepâncias, a região variável kappa foi amplificada com um primer que introduziria um sítio *Xba* I na extremidade 5 ' e um sítio *Bsm*B I na extremidade 3 '. Estes fragmentos foram então ligados junto com uma região constante humana kappa (figura 13) com um *Bsm*B compatível I na extremidade 5 ' e na extremidades 3 ' de *Sal* I em pDSRα20 com as extremidades *Xba* I e *Sal* I.

EXEMPLO 5:

Expressão transiente dos anticorpos

Este exemplo fornece um método de expressar transientemente anticorpos de anti-IGF-1R. Os anticorpos foram expressos transientemente nas células 293T adaptadas a suspensão livre de soro. Todas as transfecções foram executadas como culturas de 250 mL.. Resumidamente, 1.25 x 10^8 células (5.0 x 10^5 células/mL x 250 mL) foram centrifugadas à 2.500 rpm por 10 minutos à 4° C para remover o meio condicionado. As células foram re-suspendidas em DMEM livre de soro e centrifugadas outra vez à 2.500 rpm por 10 minutos à 4° C. Após aspirar a solução de lavagem, as células foram re-suspendidas no meio de crescimento [DMEM/F12 (3: 1) + 1x suplemento de insulina-transferrina-selênio + 1x Pen Strep Glut + 2mM de L-Glutamina + 20 mM de HEPES + 0,01% Pluronic F68] em uma 500 mL cultura do frasco em agitação. A cultura do frasco foi mantida em placa de agitação magnética à 125 rpm que foi colocada em um incubador humidificado mantido à 37° C e 5% de CO_2 . O DNA do plasmídio foi incubado com o reagente de transfecção em um tubo cónico de 50 mL. O complexo do reagente transfecção do DNA foi preparado em 5% do volume final da cultura em DMEM livre de soro. Um micrograma de DNA do plasmidio por mililitro da cultura foi adicionado primeiramente a DMEM livre de soro, seguido por 1 µl cultura de X-TremeGene RO-1539/mL. Os complexos foram incubados em temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos e foram adicionados então às células no frasco. A transfecção/expressão foi executada por 7 dias, depois do qual o meio condicionado foi coletado por centrifugação à 4.000 rpm por 60 minutos à 4° C.

Se a transfecção inicial não render 100 µg antibiótico purificado requerido,

aqueles clones seram re- expressado em frascos cilíndricos. Estas transfecções usaram as células 293T aderentes crescidas e mantidas em DMEM suplementado com 5% FBS + 1x aminoácidos não-essenciais + 1x PenStrepGlut + 1x Piruvato de Sódio. Aproximadamente, 4-5 x 10^7 de células 293T foram semeadas em frascos cilíndricos de 850cm^2 overnight. As células previamente semeadas foram então transfectadas no seguinte dia usando o reagente de transfecção FUGENE™ 6. A mistura do reagente de transfecção do DNA foi preparada em aproximadamente 6,75 mL DMEM livre de soro. 675 µl do reagente de transfecção FUGENE™ 6 foi adicionado primeiramente, seguido de 112 µl DNA do plasmidio. O complexo foi incubado em temperatura ambiente por 30 minutos. Toda a mistura foi então adicionada a um frasco cilíndrico. O frasco cilíndrico foi infundido com uma mistura de 5% do gás CO_2 , tampado firmemente e colocado em uma incubadora à 37° C em uma mesa agitadora à 0,35 rpm. A transfecção foi executada por 24 horas após a qual, o meio foi substituído com 100 mL DMEM + 1x suplemento Insulina-transferrina-selênio + 1x PenStrepGlu + 1x aminoácidos não-essenciais + 1x Piruvato de Sódio. Tipicamente, 2-3 coletas (100ml) foram obtidas de cada frasco em um intervalo de 48 horas. O meio foi condicionado livre de soro coletado junto e centrifugado à 4.000 rpm por 30 minutos à 4° C.

EXEMPLO 6:

Purificação em pequena escala do anticorpo Anti-IGF-1R

Este exemplo fornece um método de purificação de anticorpos anti-IGF-1R em uma escala pequena. O meio condicionado foi filtrado através de filtros de 0,45 µm de acetato de celulose e concentrou aproximadamente 8 dobras usando um membrana de fluxo tangential 50 K Vivaflow 200 (Vivascience, Goettingen, Germany). A resina de fluxo rápida SEPHAROSE™ da rProteinA (Biosciences de Amersham, Piscataway, NJ) foi lavado com tampão fosfato salino (2,7 mM de cloreto de potássio, 138 mM de cloreto de sódio, 1,5 mM de fosfato de potássio, e 8.1 mM de fosfato de sódio, pH 7.4) (PBS) quatro vezes e então aplicadas diretamente aos meios concentrados. A quantidade de resina usada foi baseada na concentração do anticorpo determinada por ELISA onde 1 µl da resina foi

552

usado por 5 µg de anticorpo. O meio foi incubado overnight à 4° C com leve agitação. A resina foi centrifugada em 500 g por 10 minutos em 4° C. O sobrenadante foi decantado como uma fração não ligante. A resina foi lavada com PBS quatro vezes por um minuto a temperatura ambiente com agitação leve, coletando cada vez a resina por centrifugação em 500 g por 10 minutos à 4° C. O anticorpo foi eluído incubando a resina com 1,5 volumes de glicina 0.1 M pH 3,0 por 10 minutos a temperatura ambiente. A resina foi centrifugada em 500 g por 10 minutos a 4° C e o sobrenadante decantado como o anticorpo eluído. A etapa de eluição descrita acima foi repetida para um total de três eluições; cada vez que o material eluído foi neutralizado com 0,04 volumes de tris-HCl 1.0 M, pH 9.2. A amostra foi filtrada através de filtros de 0.2 µm de acetato de celulose. A concentração da proteína foi determinada pelo método de Bradford usando o ensaio da proteína Bio-Rad (Bio-Rad laboratórios, Hercules, CA) como as instruções fornecidas usando IgG humano (Sigma- Aldrich, St Louis, MO) como padrão. A amostra foi comparada a um IgG1 humano, padrão de K (Sigma-Aldrich, St Louis, MO) usando um gel de poliacrilamida de SDS de tris-glicina 4-20% (SDS-PAGE) marcado com tinta azul de Coomassie brilhante. Nenhuma proteína de contaminação foi visível nestas preparações.

EXEMPLO 7:

Isolamento de clones de CHO estável expressando anticorpos

Este exemplo fornece um método para isolamento de linhagens celulares estáveis de CHO que expressam anticorpos anti-IGF-1R. A expressão estável de TQ11C, TQ25, TQ 58 e TQ59 IgGl foi conseguida pela co-transfecção de células CHO AMI-D (Pat. US6.210.924, incorporado aqui pela referência em sua totalidade) com construções de expressão pDSRα20 de cadeias pesadas e leves de IgG1. As transfecções do plasmídio foram executadas usando LF2000 (Invitrogen, Carlsbad, CA) de acordo com as instruções do fabricante. Resumidamente, células CHO de 4x 106AM1-D foram semeadas 24 horas antes da transfecção, em placas de petri FALCON™ plásticas de 100 mm de diâmetro (Falcon BD, Franklin Lake, NJ) em 10 ml do meio de Eagle modificado por Dulbeco

553

(Invitrogen) suplementadas com soro fetal bovino 5%, 1x penicilina-estreptomicina e glutamina (Invitrogen), aminoácidos não-essenciais (Invitrogen), piruvato de sódio, e HT (0.1mm de sodiohipoxantina, 16 nM de timidina; Invitrogen). Aproximadamente 15 mg de cada DNA plasmidial pDSRα21 – cadeia pesada e cadeia leve foram linearizados usando *Pvu* I (New England Biolabs) e foram diluídos em 2 ml de OPTI-MEM® (Invitrogen). Os plasmídios diluídos foram misturados com 75 µl de LIPOFECTAMINE™ 2000 (LF2000; GBCO/BRL) diluído em 2 ml de OPTI-MEM® e a mistura foi incubada por 20 minutos à temperatura ambiente. No dia seguinte foi adicionado meio de crescimento fresco. As células foram cultivadas no meio completo de crescimento por 48 horas, semeados então no meio de seleção HT em diluições 1:20 e 1:50. Aproximadamente 2 semanas após a transfecção, 12 - 24 colônias visíveis foram picadas em placas de 24 poços, usando discos estéreis de clonagem (RPI). Clones expressando níveis mais elevados de TQI 1C, TQ25, TQ58 e TQ59 IgGI foram identificados pela análise de imunoblot. Para executar este ensaio, 0,5 ml do meio livre de soro foram adicionados as únicas células confluentes cultivadas em placas de 24 poços (Falcon BD). O meio condicionado foi recuperado após 24 horas, e 10 µl de CM foi misturado com um volume igual de tampão de corrida para correr um gel de poliacrilamida com a proteína Tris-Glicina 10% (Invitrogen). O gel foi transferido para membranas de nitrocelulose de 0.45 µm poros de tamanho (Invitrogen), e a análise de Western Blot foi feita usando diluição 1: 1000 do anticorpo de cabra anti-humano IgG Fc ImmunoPuro (perfurar Biotecnologia, Inc., Rockford, IL) e ECL como agente de detecção.

EXEMPLO 8:

Escala média de expressão dos anticorpos

Este exemplo fornece um método de expressar anticorpos anti IGF-1R expressos por linhagens celulares estáveis de CHO.

As linhagens celulares CHO feitas de acordo com o exemplo 7 foram expandidas nos frascos de cultura de tecido T 175 (Falcon) para escalonar a expressão. Frascos T175 confluentes (aproximadamente 2 -3 x 107 células) foram

554

usados para semear 30 frascos cilíndricos de 850 cm2 (Corning Life Science, Acton, MA), e três frascos cilíndricos confluentes (aproximadamente 1-2 x 108 células por frasco) foram usados para semear 30 frascos cilíndricos em 250 ml de DMEM de alta glicose (Invitrogen), FBS 10% dializado (Invitrogen), 1x glutamina (Invitrogen), 1x aminoácidos não essenciais (Invitrogen), 1x piruvato de sódio (Invitrogen). O meio foi infundido com CO2 10% /ar balanceado por 5 segundos antes de tampar o frasco cilíndrico. Os frascos cilíndricos foram incubados à 37° C mesas agitadoras à 0.75 rpm.

Quando a célula alcançou aproximadamente 85-90% confluência (aproximadamente 5-6 dias de cultura), o meio de crescimento foi descartado, a célula foi lavada com 100 ml PBS, e 200 ml de meio de produção foi adicionado (50% DMEM (Invitrogen)/50% F12 (Invitrogen)), 1x glutamina (Invitrogen), 1x aminoácido não-essencial (Invitrogen), 1x piruvato de sódio (Invitrogen), 1.5% DMSO (Sigma). O meio condicionado foi coletado a cada sete dias para um total de quatro coletas.

O meio condicionado foi filtrado através de filtros de 0,45 µm de acetato de celulose e concentrou aproximadamente 10 dobras usando uma membrana de fluxo tangencial Sartocon Slice Disposable 30 K (Sartorius AG, Goettingen, Germany). O material concentrado foi aplicado a 10 ml de rProteina A de uma coluna de Sepharose à 4° C e o fluxo foi coletado como fração não ligante. A coluna foi lavada com quatro volumes da coluna de PBS. A amostra ligada foi eluída com aproximadamente quatro volumes da coluna de glicina pH 3.0 0.1 M. O pico de eluição foi coletado e neutralizado com 0,04 volumes de tris-HCl 1,0 M, pH 9,2. O eluído foi dializado junto a 150 volumes de PBS overnight à 4° C. A amostra foi filtrada através de filtros de 0.2 µm de acetato celulose e a concentração da proteína foi medida determinando a absorbância em 280nm usando um coeficiente de extinção de 14.000 M-l. A amostra foi comparada a um IgGl humano, padrão d K (Sigma- Aldrich, St Louis, Missouri, EUA) usando um gel SDS-PAGE de tris-glicina 4-20% marcado com a tinta azul de Coomassie brilhante. Os níveis de endotoxina em cada preparação do anticorpo foram

determinados usando o ensaio de Pyrotell Limulus Amebocyte Lysate (Cape Cod Associates, Inc., Falmouth, Ma) como pelas instruções fornecidas.

EXEMPLO 9:

Ensaios da competição da resposta de Dose ORIGEN®

Este exemplo fornece métodos de teste de habilidade de um anticorpo ligar um bloco ligante a IGF-1R.

Um ensaio de ligação de ORIGEN® foi usado para determinar se os anticorpos TQl 1C, TQ25, TQ 58 e TQ59 IgGl poderiam obstruir o ligação que liga a IGF-IR usando os procedimentos fornecidos pelo fabricante (Igen, Inc., Gaithersburg, MD). Para marcar IGF-1 e IGF-2 com rutenium, as proteínas liofilizadas foram dissolvidas em PBS para obter 1.0 mg/ml solução. O marcador (ORI-TAG-NHS ester from Igen cat # 110034) foi adicionada à proteína em uma relação molar de 5:1 (marcador: proteína) de um estoque de marcadores de 5 mg/ml em DMSO. A mistura foi incubada a temperatura ambiente (20-22° C) por 1 hora no escuro, a seguir foi tratada com 20 µl de glicina 2M por 10 minutos a temperatura ambiente. A proteína marcada foi separada da não marcada pela aplicação a uma coluna Biosciences NAP-5 da Amersham (Biosciences de Amersham, Piscataway, NJ) equilibrada em PBS e as frações de 0m33 ml foram coletadas. A concentração da proteína das frações foi determinada pelo micro ensaio da proteína de BCA (Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL). As frações dois e três continham a proteína significativa e foram combinadas. A quantidade de marcadores incorporada do rutenium foi avaliada usando a seguinte fórmula: marcador do composto de tris-bipiridil do rutenium (Ru 32+ (bpy)) de IGF-1 e de IGF-2.

As partículas paramagnéticas de Dynal M450 revestidas com o IgG anti-rato de carneiros foram usados como a fase contínua da sustentação para IGF-1R (ECD) - C3-muFc. As partículas M450 foram preparadas para o carregamento do receptor lavando três vezes com o tampão de ensaio que contêm 1x PBS, 0,05% TWEEN™ 20 (ICI Americas, Inc., Wilmington DE) 0.1% BSA, 0.01% azida de sódio. O IGF-1R (ECD) - C3-muFc foi ligado por 1 hora numa taxa de 50 ng de

receptor por 1 x 106 partículas de M450 em um volume de tampão de ensaio de 25 µl. Para gerar dados da resposta de dose, os anticorpos ou os fatores IGF-1 e IGF-2 não marcados foram adicionados nas concentrações crescentes (10^{-11} M a 10^{-6} M) simultaneamente com 1 nM de Ru-IGF-1 ou 2 nM de Ru-IGF-2. O volume final da reação foi de 100 µl. Após a incubação a temperatura ambiente no escuro por 2 horas, um analisador M8 (Igen) foi usado para remover o rutenium livre marcado ligado e determinar a quantidade de ligante ligado ao receptor. Os dados foram expressos como por cento de ligantes total ligados menos fundo restante após a competição com excesso de crescimento não marcado IGF1 ou IGF-2. As curvas da competição foram geradas com o software GraphPad prisma (software de GraphPad, San Diego, CA) usando um único modelo componente de equilíbrio. Essencialmente todos (> ligação de 98%) os ligantes foram competidos com os fatores em excesso não marcados do crescimento. Os anticorpos positivos do controle na análise de ligação foram os anticorpos murino αIR3 (Calbiochem, San Diego, CA) ou MAB391 (R&D Systems, Minneapolis, MN), 24-57 (Biocarta, San Diego, CA) e 1H7 do anti-IGF-1R (Santa Cruz Biotecnology, Inc., Santa Cruz, CA). O anticorpo de controle negativo era um anticorpo anti-CD20. Os dados da competição do ligante são mostrados na figura 15. Os valores do Ki e valores da máxima inibição observados para as reações de ligação de IGF-1 e IGF-2 são listados na tabela 6.

Tabela 6

Anticorpo	IGF 1		IGF 2	
	Ki(nM)[1]	Max (%)[2]	Ki(nM)[1]	Max (%)[2]
TG11C	0,6	84	0,3	91
TG25	0,8	88	0,8	94
TG58	0,8	91	0,8	91
TG59	1,5	79	1,4	91
1H7	16,0	89	13,1	99
αIR3	5,3	91	Sem inibição	

[1] ki de inibição

[2] nivel máximo de inibição a 1µM de concentração de anticorpo.

EXEMPLO 10:

Ensaio de competição da resposta de Dose do SPA

Este exemplo apresenta um ensaio da proximidade de cintilação (SPA) para avaliar o efeito dos anticorpos na interação da insulina (INS) com o receptor de insulina (INSR) e de IGF-1 e de IGF-2 a 1GF-1R.

As reações de ligação de IGF-1R para anticorpos TQ11C, TQ25, TQ58 e TQ59 IgG1 continham 1x PBS, 0,05% TWEEN® 20 (Mallinkrodt), 0,1% BSA (EM Science,Gibbstown,NJ), 50 ng IGF-1R(ECD)-C3-muFc, 500ug de fluoromicroesferas de anti-rato IgG SPA PVT (Amersham) e IGF-I ou IGF-2 ^{125}I-marcado obtido de Amersham em uma concentração final de 0,64 nM. O volume total da reação foi de 100 µl. As reações de ligação de INSR eram idênticas a não ser as que continham 50 ng INSR (ECD) - muFc e 0.64 nM de ^{125}I-INS (Amersham). O Receptor foi carregado em microesferas de SPA PVT por 1h a temperatura ambiente antes da montagem das reações de ligações. Para gerar dados da resposta de dose, os anticorpos ou os fatores de crescimento não marcados foram adicionados nas concentrações crescentes (10^{-11} M a 10^{-6} M) simultaneamente com fatores de crescimento ^{125}I-marcados. Essencialmente todos os ligantes foram competidos com os fatores excessivos não-marcados do crescimento. O receptor-independente, causado pela estimulação aleatória de microsferas de SPT PVT, foi menor que 0,5% da entrada de ^{125}I cpm. Os dados foram expressos em porcentagem de ligantes totais ligados menos o fundo restante após a competição com fatores excessivos de crescimento não-marcados de IGF1 ou IGF-2. As curvas de competição foram geradas com software GraphPad prisma usando um único modelo componente de equilíbrio.

EXEMPLO 11:

Anticorpo que liga-se a IGF-1R

Este exemplo fornece um método de detectar a ligação de um anticorpo anti-IGF-1R a IGF-1R.

BIACORE® 2000, um sensor de microplaqueta CM5, o surfactante P20,

HBS-EP (1OmM HEPES, 0.15M deNaCl, 3,4mM de EDTA , 0,005% P20, pH 7.4), o kit de ligação de amino, 1OmM de acetato pH 4.5 e 1OmM de glicina pH 1,5. Todos foram comprados de BIACore, Inc. (Piscataway, NJ). Tampão fosfato salino (PBS, 1X, sem cloreto de cálcio, sem cloreto de magnésio) foi da Gibco. O soro de albumina bovina (BSA, fração V, IgG livre) foi da Sigma. A proteína Recombinante G ("rProtein G") foi da Pierce Biotecnology.

A Imobilização da rProtein G e IGF-1R-C3-muFc à superfície do sensor de microplaqueta foi executado de acordo com instruções do fabricante, usando um fluxo contínuo de 1OmM HEPES, 0.15M de NaCl, 3.4mM de EDTA , 0.005% P20, pH 7.4 (tampão HBS-EP). resumidamente, os grupos carboxil nas superfícies do sensor de microplaquetas foram ativados injetando 60 µl de uma mistura que contendo 0,2 M de n-etil-N' (dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) e 0.05 M N-hidroxisuccinimida (NHS). As superfícies específicas foram obtidas injetando a rProtein A (Pierce) ou IGF-1R-C3-mFc diluídas em 1OmM de acetato, pH 4.5 em concentrações entre 20 e 50 µg/ml. Os grupos reativos adicionais nas superfícies foram desativados injetando 60 µl de 1M de etanolamina. Os níveis imobilizados finais foram de 5.000-6.000 unidades de ressonância (RU) para as superfícies C da proteína, e ~7.800 RU para as superfícies IGF-1R-mFc. Uma superfície de referência em branco, simularmente-acoplada foi preparado também no sensor de microplaqueta IGF-1R-mFc.

A análise cinética da interação entre IGF-1R-mFc e os anticorpos foi executada como segue. Os anticorpos bem como um anticorpo de controle positivo (quimera anti-IR3-CDR-humano-rato) foram diluídos em PBS + 0.005% P20 + 0.1 mg/ml BSA e injetados sobre as superfícies da proteína G para capturar os anticorpos. O IGF-1R-mFc foi diluído em PBS + 0.005% P20 + 0.1 mg/ml BSA de 500nM a 3.9nM, e cada concentração foi injetado sobre as superfícies capturadas do anticorpo, assim como sobre uma superfície em branco da proteína G para a subtração de fundo. Após uma dissociação de 10 minutos, cada superfície foi regenerada injetando 1OmM de glicina, pH 1.5. A análise cinética dos sensorgramas resultantes foi executada usando BIAEvaluation, V. 3.2 (BIACore,

559

Inc.

Uma análise da afinidade da solução foi feita incubando duas concentrações diferentes (0.2nM e 1nM) dos anticorpos com variação de concentrações (0,01nM a 5OnM) do IGF-1R-mFc em PBS + 0.005% P-20 + 0,1 mg/ml BSA. As incubações foram feitas a temperatura ambiente no mínimo por cinco horas para permitir que as amostras alcançassem o equilíbrio. As amostras foram então injetadas sob a superfície IGF-1R-mFc imobilizadas. Após a injeção da amostra, as superfícies foram regeneradas injetando 25 µl de glicina 8mM, pH 1,5. O sinal de ligação obtido é proporcional ao anticorpo livre na solução no equilíbrio. A constante de equilíbrio de dissociação (KD) foi obtida da análise não-linear da regressão das curvas de competição usando um modelo de ligação um-sítio homogêneo de dupla-curva (KinExA software v.2.3 , Sapidyne Instruments Inc., Boise ID). Os dados são mostrados na tabela 7.

Tabela 7

Anticorpo	K_a (1/Ms)	K_d (1/s)	Método cinético Kd (ka/Kd)	Método de equilíbrio Kd
TG11C	$6,0 \times 10^4$	$6,7 \times 10^{-5}$	1,1 nM	0,3 nM
TG25	$4,4 \times 10^4$	$<< 5 \times 10^{-5}$		1,10 nM
TG58	$1,1 \times 10^4$	$2,8 \times 10^{-5}$	0,25 nM	0,25 nM
TG59	$6,9 \times 10^4$	$2,1 \times 10^{-4}$	3,0 nM	0,30 nM

EXEMPLO 12:

Mapeamento do Epitopo de proteínas de fusão Avidina.

Este exemplo fornece um método de determinar o epitopo de IGF-1R ligtado por um anticorpo anti-IGF-1R. Os subdomínios de IGF-IR ligados por anticorpos TQ11C, TQ25, TQ58, e TQ59 foram determinados usando proteínas de fusão avidina-IGF-LR. Para expressar cada proteína as seqüências codificantes do DNA do IGF-1R completo (ECD) clonados no vetor de expressão pCep4-avidina-C de forma que a seqüência da avidina da galinha foi ligada ao C-terminal da

proteína expressa com IGF-1R. A seqüência de codificação de ECD (1-932) foi amplificada por PCR à partir de um plasmídio parental de IGF-1R usando primers de PCR 2804-25: 5

5 ' GCAAGCTTGGGAGAAATCTGCGGGCCAG 3 ' SEQ ID NO : 265 e 2826-68:

5 ' ATTGCGGCCGCTTCATATCCTGTTTTGGCCTG 3 ' SEQ ID NO : 266

Os primers incluem um sítio 5 ' *Hind*III e um sítio 3 ' *Not* I para clonagem em pCep4avidina-C. A seqüência do aminoácido da proteína de fusão avidina humana de IGF-1R (ECD) é mostrada na figura 12. As construções dos subdomínios de IGF-1R usadas para traçar o epitopo incluem: L1 (1-151), CR (152-298), L2 (299-461), FnIII- 1 (461-579), FnIII-2/ID (580-798), FnIII-3 (799-901), L1+CR+L2 (1-461), e LI+CR (1-298). As coordenadas do aminoácido do subdomínio de IGF-1R representado em cada plasmídio de expressão são dadas em parênteses. A seqüência de codificação de cada domínio foi amplificado por PCR de um clone parental do cDNA de IGF1R usando os seguintes pares do primer:

L1:

2804-25: (SEQ ID NO:265) 2804-19:

5' ATTGCGGCCGCCCCACATTCCTTTGGGGGC 3'SEQ ID NO:267

CR:

2804-38:

5' AGCAAGCTTGGACCTGTGTCCAGGGACC 3' SEQ ID NO:268 2804-20:

5' ATTGCGGCCGCGCAAGGACCTTCACAAGGG 3' SEQ ID NO:269

L2:

2804-39:

5' AGCAAGCTTGCCGAAGGTCTGTGAGGAAG 3' SEQ ID NO:270 2804-23:

5' ATTGCGGCCGCACTTTCACAGGAGGCTCTC 3' SEQ ID NO:271

FnIII-1:

2808-08:

5' AGCAAGCTTGGACGTCCTGCATTTCACCTC 3' SEQ ID NO:272 2804-52:

5' ATTGCGGCCGCGGTGCGAATGTACAAGATCTC 3' SEQ ID NO:273

561

FnIII-2+ID:

2804-41:

5' AGCAAGCTTGAATGCTTCAGTTCCTTCCATTC 3' SEQ ID NO:274 2804-51:

5' ATTGCGGCCGCAGTCCTTGCAAAGACGAAGTTG 3' SEQ ID NO:275

FnIII-3:

2804-42:

5' AGCAAGCTTGATGCCCGCAGAAGGAGCAG 3' SEQ ID NO:276 2804-50:

5' ATTGCGGCCGCTTTAATGGCCACTCTGGTTTC 3' SEQ ID NO:277

L1+CR+L2:

2804-25:

5 ' AGCAAGCTTGGGAGAAATCTGCGGGCCAG 3 ' SEQ ID NO : 278 2804-23 (SEQ ID NO:272)

L1+CR:

2804-25: AGC AAG CTT GGG AGA AAT CTG CGG GCC AG (SEQ ID NO:279)

2804-20 (SEQ ID NO:270)

Os primers incluíram os sítios *Hind* III e *Not* I para a clonagem como descrito para IGF-1R (ECD). Os subdomínios de IGF-1R foram clonados no vetor de expressão pCep4avidina-N de forma que a seqüência da avidina da galinha (com seqüência de sinal endógeno) é ligada ao N-terminal das proteínas expressas de IGF-1R. A expressão de cada proteína da fusão da avidina foi conseguida pela transfecção transiente das células 293-EBNA humanas (Invitrogen) em culturas dos frascos cilíndricos. As células foram crescidas e mantidas em DMEM suplementadas com 5% FBS + 1x aminoácidos não essenciais + 1x Pen Strep Glut + 1x Piruvato de Sódio. Aproximadamente 4-5 x 107 de células 293-EBNA foram semeadas em frascos cilíndricos de 850 cm^2 overnight. As células previamente semeadas foram transfectadas então com DNA plasmidial de pCep4-avidin no dia seguinte usando o reagente de transfecção FUGENE™ 6. A mistura DNA - reagente de transfecção foi preparada dentro de aproximadamente 6,75 mL DMEM livre de soro. 675 µl do reagente de transfecção FUGENE™ 6 foi adicionado primeiramente, seguido por 112.5 µg do DNA

562

plasmidial. O complexo foi incubado a temperatura ambiente por 30 minutos. A mistura completa foi adicionada então a um frasco cilíndrico. O frasco foi gaseificado com uma mistura de gás de CO2 a 5%, tampado firmemente e colocado em uma incubadora a 37° C em uma estufa giratória a 0,35 rpm. A transfecção foi executado por 24 horas após do qual o meio foi substituído com 100 mL de DMEM + 1X suplemento de Insulina-Transferrina-Selênio + 1X Pen Strep Glu + 1X aminoácidos não essenciais + 1X Piruvato de Sódio. A coleta do meio e a recolocação com meio fresco ocorreram em intervalos de 48 horas (2-3 ciclos). O meio condicionado livre de soro coletado e foi unido e clarificado por centrifugação à 10.000 rpm x por 30 minutos à 4° C.

A concentração da fusão da avidina em cada meio condicionado foi determinada usando um método baseado em FACS quantitativo. 200 µl da proteína de fusão avidina do meio condicionado foi capturada pela incubação por 2 horas a temperatura ambiente com 5µl (~ 3.5×10^5) de grânulos revestidos de poliestirenobiotina (Spherotech, Inc., Libertyville, IL). O meio condicionado foi removido por três ciclos de centrifugação e por resuspensão dos grânulos avidina-revestidos em PBS que contêm 0,5% BSA (BPBS). Os grânulos de avidina foram marcados com 1 µg/ml do anticorpo de cabra anti-avidina FITC-marcado (Vector Lab Burlingame, CA) 1ml em BPBS. Após 0,5 horas de incubação dos complexos anticorpo-grânulos foram coletados por centrifugação à 1800 rpm por 5 minutos e o precipitado foi lavado três vezes. A fluorescência de FITC foi detectada com um FACSCAN (Beckton Dickson Bioscience, Franklin Lakes, NJ). O sinal foi convertido à massa da proteína usando uma curva padrão derivada com avidina recombinante. Para o mapeamento do epitopo, os grânulos de biotina foram carregados com 50-100ng da proteína de fusão da avidina por ~3.5×10^5 grânulos dos grânulos através da incubação com a quantidade apropriada (1-20 ml) do meio condicionado. Os grânulos carregados foram lavados extensivamente e re-suspendidos em 1ml de BPBS. Para todo o experimento, os grânulos de biotina foram bloqueados com 10% BSA em PBS antes do carregamento da proteína de fusão.

563

Método 1, um ensaio de coloração: os grânulos de poliestirenos revestidos com Biotina carregados com proteínas da fusão do subdomínio de IGF-1R (ECD) e de IGF-1R foram misturados com 1 µg do anticorpo de anti-IGF-1R em 1 ml de BPBS. Após a incubação por 1 hora a temperatura ambiente, 4 ml do tampão de lavagem foi adicionado e os complexos dos anticorpo-grânulos foram coletados através da centrifugação por 5 minutos em 750g. O precipitado foi lavado 3 vezes pela re-suspensão em 4 ml de BPBS. Os complexos de grânulos de avidina do anticorpo foram detectados pelo tratamento com 0,5 µg/ml de Ficoeritrina de cabra (PE) F(ab')2 anti-humano (Southern Biotechnology Associates, Inc., Birmingham, AL) em 1 ml de BPBS. Os anticorpos testados foram fornecidos para ligar-se à proteína de fusão avidina contendo o completo IGF-1R ECD e o domínio L2. A ligação à L1, CR ou à FnIII-1 não foi detectada neste experimento. Uma reação relativamente fraca foi também observada com o domínio L1.

Método 2, ensaio de duas cores: Monitorar simultaneamente a quantidade de anticorpo monoclonal do anti-IGF-1R e a avidina-fusão ligada aos grânulos de biotina, anticorpos anti-avidina FITC-marcados foram incluídos (1 µg/ml) na reação de ligação em combinação com 0,5 µg/ml IgG1 de cabra anti-humano PE-marcado. Os grânulos foram preparados para a análise de FACSCAN como descritos para o ensaio de cor.

Método 3, competição do anticorpo: Para preparar-se para marcação com fluorescência, os anticorpos foram dializados ou re-suspendidos em uma concentração de 1 mg/ml em PBS (pH 8.5). Ácido hexanóico marcado ([6-fluoresceina-5- (and-6) - carboxamido], ester de succinimidil 5 (6) - SFX] isomeros misturados de sondas moleculares (Eugene, OR, cat No. F2181) foram adicionados à proteína em uma relação 9.5:1 molar (marcação: proteína) de um estoque de marcadores de 5mg/ml de DMSO. A mistura foi incubada à 4° C overnight no escuro. O anticorpo marcado foi separado dos não marcados através de diálise em PBS. As relações de anticorpo/ FITC oscilaram de 3 a 8. Para cada experimento de competição, uma reação de ligação foi montada que contendo um excesso de 50 dobras (10-50 µg/ml) do anticorpo competidor não marcado, 3.5 x

564

10^5 grânulos de biotina revestidos com a proteína de fusão à avidina em BPBS. O anticorpo FITC-marcado (1 µg/ml) foi adicionado após uma pré-incubação de 30 minutos. O processo seguiu ao método um de coloração deste ponto em diante. Cada um dos quatro anticorpos testados liga-se ao domínio de IGF-1R L2, como mostrado na tabela 8. Entretanto, os contatos precisos do aminoácido de cada anticorpo no domínio de IGF-1R L2 podem diferir-se.

Tabela 8

Anticorpo	L1[1]	CR[1]	L2[1]	FnIII-1[1]	ECD[1,2]
TQ 11 C	Não	Não	Sim	Não	Sim
TQ 25	Não	Não	Sim	Não	Sim
TQ 58	Sim	Não	Sim	Não	Sim
TQ59	Sim	Não	Sim	Não	Sim

[1] mapeamento do Epitopo foi realizado com proteinas de fusão avidina-IGF-1R contendo regiões de indicação humana de IGF-1R.

[2] O ECD de fusão continha L1+CR+L2+FnIII-1+FnIII-2+ID+FnIII-3.

EXEMPLO 13:

Anticorpo de ligação a superfície celular do IGF-1R

Este exemplo fornece um método para detecção da ligação de um anticorpo do anti-IGF-1R à superficie da célula que expressa IGF-1R.

A habilidade dos anticorpos TQ11C, TQ25, TQ58, e TQ59 de ligar-se à IGF-1R humano demonstrado na superfície da célula foi avaliada usando fibroblastos de Balb/C 3T3 e células do câncer de mama humano MCF-7 engenheirados a super expressar o receptor humano IGF-1R em um nível de ~3-4 x 10^5 moléculas por célula. Uma linhagem celular de Balb/C 3T3 que super expressam estavelmente o IGF-1R humano (~ 3 x 10^5 receptores por célula) foram derivadas com um vetor retroviral essencialmente como descritos por Pietrzkowski et al, 1992 Cell Growth Differentiation 3:199 - 205. As células do câncer de mama MCF-7 que super produziram o huIGF-1R foram transfectadas com um vetor de expressão pcDNA3.1 (Invitrogen Corp.). As células resistentes de Zeocina que expressam um

nível elevado de hu IGF-1R (~4 x 10^5 receptores por célula) foram expandidos após a seleção por FACS usando o anticorpo monoclonal αIR3 anti-IGF-1R e um anticorpo IgG anti-murino de cabra PE-marcado (Caltag Laboratories, Burlingame, CA). O processo da seleção e da expansão foi repetido quatro vezes.

A marcação do anticorpo do receptor de IGF-1R e a expressão do receptor foram monitoradas por FACS como segue: as células foram liberadas dos frascos T175 (Corning) lavando 2 vezes com o excesso PBS (Ca/Mg livre) seguido pelo tratamento com 5 ml de tampão de dissociação celular (Sigma) por 10 minutos à temperatura ambiente. As células foram coletadas por centrifugação e lavadas duas vezes ressuspendendo-as em PBS e centrifugação Para o anticorpo preliminar marcado, 1 µg do anticorpo foi adicionado para 10^6 células ressuspendidas em 100 µl no PBS e mais 0,5% BSA (BPBS) e as células foram incubadas à 4° C por 1,5 horas. As células foram coletadas por centrifugação e lavadas duas vezes com BPBS para remover o anticorpo preliminar não ligado. As células foram ressuspendidas em 100 µl de BPBS e incubadas com 1 µg FITC-marcado de cabra e F(ab')2 (Southern Biotecnology Association, Inc., Birmingham, AL) à 4°C por 30 minutos. Após a lavagem para remover o anticorpo secundário não ligado de FITC, as células foram ressuspendidas em 1 ml de PBS+ 0.5% BSA e a fluorescência da célula de FITC foi detectada com FACSCAN (Beckton Dickson Bioscience, Franklin Lakes, NJ). Os níveis de fluorescência foram convertidos aos níveis absolutos do receptor usando Quantum microbead (Bangs Laboratories, Inc., Fishers, IN) com capacidade de ligação predeterminada de IgG1 para gerar uma curva padrão. A redução de dados foi executada com o software QuickCal v2.1 (Verity Software House, Topsham, ME) fornecido pelo fabricante.

A intensidade do pico de fluorescência do anticorpo anti-IGF-1R marcando super expressores de IGF-1R foi aumentada 10-20 dobras relativas ao Balb/C 3T3 parental e células MCF-7 para cada um dos anticorpos testados. Este é o resultado presumido para um anticorpo que liga-se especificamenteà IGF-1R. A fluorescência das células tratadas com nenhum anticorpo ou FITC- secundários

566

marcados foi insignificante.

EXEMPLO 14:

Inibição de IGF-1R

Os presente método deste exemplo é para detectar a inibição de IGF-1R por anticorpos anti-IGF-1R.

Células de inibição 32D hu IGF-1R+IRS-1

Células murina 32D que co-expressam o receptor humano de IGF-1R (20K por célula) e IRS-1 humano provaram ser um sistema eficaz para examinar os componentes moleculares de IGF-1R de sinalização Valentinis et al, 1999, Biol Chem 274:12423 de J - 30. As células 32D normais expressam níveis relativamente baixos de ortólogos murinos destes produtos de dois genes. A célula 32D requer normalmente IL3 para seu crescimento e sobrevivência. IGF-1 ou IGF-2 podem substituir IL3 por células de 32D huIGF-IR+IRS-1 como mostrado na figura 16, painel A. O EC_{50} da curva de resposta de dose de IGF-1 foi de aproximadamente 0,5 nM, visto que o IGF-2 EC_{50} (2,8 nM) é de aproximadamente seis dobras mais alta refletindo uma afinidade mais fraca de IGF-2 para IGF-1R. Para avaliar a habilidade dos anticorpos TQ11C, TQ25, TQ58, e TQ59 de bloquear IGF-1 ou estimular IGF-2, placas de 96 poços de microtitulação foram semeadas com 30.000 32D hu IGF- 1R+IRS-1 células por poço em um volume de 200 µl de RPMI (Gibco/BRL) contedo soro fetal bovino 5% (Gibco/BRL) e 1x penicilina, estreptomicina, glutamina (Gibco/BRL) aumentando concentrações do anticorpo (10^{-12} M a 10^{-6} M) ou nenhum anticorpo. IGF-1 (2 nM, IGF-2 (8 nM) ou nada foram adicionados após uma pré-incubação de 1 hora com anticorpo. ^{3}H-timidina (1 µCi por poço) foi adicionado em 27 adições do anticorpo por hora. As células foram coletadas 21 horas mais tarde, e a incorporação de ^{3}H-timidina no DNA foi determinada para cada amostra. Os ensaios foram executados em triplicata. Um anticorpo anti-CD20 foi usado como um controle negativo. Cada um dos anticorpos TQ11C, TQ25, TQ58, e TQ59 foram capazes de bloquear completamente a estimulação mediada por IGF-1 e IGF-2 das células 32D. A redução da proliferação de fundo na ausência de IGF-I e de IGF-2 adicionados é devido à

567

inibição do soro de IGF-1 e IGF-2. Os dados de ligação foram analisados usando o software de GraphPad PRIZM™. Os dados são mostrados na figura 16.

Inibição celular de hu IGF-1R de Balb/C 3T3 IGF-1

IGR-1 estimula extremamente a incorporação de ^{3}H-timidina por culturas de soro dos fibroblastos embriogênicos do rato (Balb/C 3T3 ou NTH 3T3) os quais super expressam IGF-1R (~1 x 10^{6} IGF-1R por célula). Kato et al, 1993, J Biol Chem 268:2655-61; Pietrzkowski et al, 1992, Cell Growth Differentiation 3:199-205. Este fenômeno é recapitulado com ambos IGF-1 e IGF-2 em uma linhagem de super-expressão da célula de hu IGF-1R Balb/C 3T3. Ambos os fatores do crescimento estimularam a incorporação da ^{3}H-timidina em aproximadamente 20 dobras. O EC_{50} da curva de resposta da dose de IGF-1 foi de aproximadamente 0,7 nM, visto que o EC_{50} de IGF-2 (4.4 nM) é maior em sete dobras, indicando uma afinidade mais fraca de IGF-2 para IGF-1R. Para avaliar a habilidade de um dado anticorpo para bloquear IGF-1 ou estimular IGF-2, placas de 96 poços de microtitulação foram semeadas com 10.000 células por poço em um volume de 200 µl de DMEM (Gibco/BRL) que contendo soro bovino 10% (Gibco/BRL) e 1x penicilina, estreptomicina, glutamina (Gibco/BRL). Após a incubação overnight, quando as células estavam aproximadamente 80% confluentes, o meio de crescimento foi substituído com 100 µl DMEM contendo 0.1% BSA após lavar uma vez com 200 µl PBS. Os anticorpos em concentrações crescentes (10^{-12} M a 10^{-6} M), ou nenhum anticorpo, foram adicionados em 24 horas pós-soro de não alimentação. IGF-1 (2 nM, IGF-2 (8 nM) e ^{3}H-timindina (1 µCi por poço) foram adicionados após pré-incubação de 1 hora com anticorpo. As células foram coletadas 24 horas mais tarde, e a incorporação de ^{3}H- timidina no DNA foi determinada para cada amostra. Os ensaios foram executados em triplicata. Cada anticorpo testado podia bloquear completamente o IGF-1 e mediar a estimulação de IGF-2 de células de Balb/C 3T3, como mostrado na figura 17.

Um anticorpo anti-CD20 foi usado como um controle negativo ("CD20" na figura 17).

Cada referência citada aqui é incorporada pela referência em sua totalidade

para qualquer ensinamento e para todas as finalidades.

568

REIVINDICAÇÕES

1. Proteína isolada de ligação ao antígeno **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende:

a. uma combinação L16/H16 de um domínio variável da cadeia leve e um domínio variável da cadeia pesada, em que o dito domínio variável da cadeia leve compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 32; e

o dito domínio variável da cadeia pesada compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 136; ou

b. um domínio variável da cadeia leve que compreende

i. a sequência CDR1 dos resíduos 24 a 39 da SEQ ID NO: 32; e

ii. a sequência CDR2 dos resíduos 55 a 61 da SEQ ID NO:32; e

iii. a sequência CDR3 dos resíduos 94 a 102 da SEQ ID NO:32; e um domínio variável da cadeia pesada compreende

i. a sequência CDR1 dos resíduos 31 a 36 da SEQ ID NO:136; e

ii. a sequência CDR2 dos resíduos 51 a 66 da SEQ ID NO:136; e

iii. a sequência CDR3 dos resíduos 99 a 108 da SEQ ID NO:136;

em que a dita proteína de ligação ao antígeno se liga ao IGF-1 R humano.

2. Proteína isolada de ligação ao antígeno, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** pelo fato de que também compreende:

a. a seqüência constante da cadeia leve kappa, SEQ ID NO: 234

b. a sequência constante da cadeia pesada de IgG1, SEQ ID NO: 235 ou

c. a sequência constante da cadeia leve kappa, SEQ ID NO: 234 e a sequência constante da cadeia pesada de IgG1, SEQ ID NO: 235.

3. Proteína isolada de ligação ao antígeno de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a dita proteína de ligação ao antígeno compreende:

a. um anticorpo humano;

b. um anticorpo humanizado;

c. um anticorpo quimérico;

d. um anticorpo monoclonal;

e. um anticorpo recombinante; um fragmento de anticorpo ligado ao antígeno; um anticorpo de cadeia única; um diacorpo; um triacorpo; um tetracorpo; um fragmento Fab; um fragmento $F(ab')_2$;

f. um anticorpo IgD; um anticorpo IgE; um anticorpo IgM; um anticorpo IgG1; um anticorpo IgG2; um anticorpo IgG3; um anticorpo IgG4; ou um anticorpo IgG4 que tem pelo menos uma mutação em uma região da dobradiça que alivie a tendência de formar uma ligação de bissulfeto na cadeia.

4. Polinucleotídeo que compreende uma sequência que codifica a dita proteína de ligação ao antígeno de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o dito polinucleotídeo compreende opcionalmente uma sequência de ácido nucleico de domínio variável da cadeia leve da SEQ ID NO: 31 e uma sequência de ácido nucleico de domínio variável da cadeia pesada da SEQ ID NO: 135.

5. Plasmídeo que compreende o dito polinucleotídeo de acordo com a reivindicação 4, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o dito plasmídeo é opcionalmente um vetor de expressão.

6. Método de produção de uma proteína de ligação a um antígeno que se liga ao IGF-1R humano, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende a incubação de uma célula compreendendo o dito polinucleotídeo de acordo com a reivindicação 4 sob condições que permitam que expresse a dita proteína de ligação ao antígeno.

7. Composição farmacêutica, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende a proteína de ligação ao antígeno de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3.

182

Fig 1

L1 (SEQ ID NO:1)

```
      GAT GTTGTGATGA CTCAGTCTCC ACTCTCCCTG CCCGTCACCC CTGGAGAGCC GGCCTCCATC
TCCTGCAGGT CTAGTCAGAG CCTCCTGCAT AGTAGTGGAT ACAACTATTT GGATTGGTAC CTGCAGAAGC
CAGGGCAGTC TCCACAGCTC CTGATCTATT TGGGTTCTAA TCGGGCCTCC GGGGTCCCTG ACAGGTTCAG
TGGCAGTGGA TCAGGCACAG ATTTTACACT GAAAATCAGC AGAGTGGAGG CTGAGGATGT TGGGGTTTAT
TACTGCATGC AAGCTCTACA AACTCCGATC ACCTTCGGCC AAGGGACACG ACTGGAGATT AAA
```

L2 (SEQ ID NO:3)

```
      GAT GTTGTGATGA CTCAGTCTCC ACTCTCCCTG CCCGTCACCC CTGGAGAGCC GGCCTCCATC
TCCTGCAGGT CTAGTCAGAG CCTCCTGCAT AGTAATGGAT ACAACTATTT GGATTGGTAC CTGCAGAAGC
CAGGGCAGTC TCCACAGCTC CTGATCTATT TGGGTTCTAA TCGGGCCTCC GGGGTCCCTG ACAGGTTCAG
TGGCAGTGGA TCAGGCACAG ATTTTACACT GAAAATCAGC AGAGTGGAGG CTGAGGATGT TGGGGTTTAT
TACTGCATGC AAGCTCTACA AACTCCGATC ACCTTCGGCC AAGGGACACG ACTGGAGATT AAA
```

L3 (SEQ ID NO:5)

```
      GAT GTTGTGATGA CTCAGTCTCC ACTCTCCCTG CCCGTCACCC CTGGAGAGCC GGCCTCCATC
TCCTGCAGGT CTAGTCAGAG CCTCCTGCAT AGTAATGGAT ACAACTATTT GGATTGGTAC CTGCAGAAGC
CAGGGCAGTC TCCACAGCTC CTGATCTATT TGGGTTCTAA TCGGGCCTCC GGGGTCCCTG ACAGGTTCAG
TGGCAGTGGA TCAGGCACAG ATTTTACACT GAAAATCAGC AGAGTGGAGG CTGAGGATGT TGGGGTTTAT
TACTGCATGC AAGCTCTACA AACTCCACTC ACTTTCGGCG GCGGGACCAA GGTGGAGATC AAA
```

L4 (SEQ ID NO:7)

```
       GA AATTGTGATG ACGCAGTCTC CACTCTCCCT GCCCGTCACC CCTGGAGAGC CGGCCTCCAT
CTCCTGCAGG TCTAGTCAGA GCCTCCTGCA TAGTAATGGA TACAACTATT TGGATTGGTA CCTGCAGAAG
CCAGGGCAGT CTCCACAGCT CCTGATCTAT TTGGGTTCTA ATCGGGCCTC CGGGGTCCCT GACAGGTTCA
GTGGCAGTGG ATCAGGCACA GATTTTACAC TGAAAATCAG CAGAGTGGAG GCTGAGGATG TTGGGGTTTA
TTACTGCATG CAAGCTCTAC AAACTCCTCA CACTTTCGGC GGAGGGACCA AGGTGGAGAT CAAA
```

L5 (SEQ ID NO:9)

```
      GAAA TTGTGCTGAC TCAGTCTCCA CTCTCCCTGC CCGTCACCCC TGGAGAGCCG GCCTCCATCT
CCTGCAGGTC TAGTCAGAGC CTCCTGCATA GTAATGGATA CAACTATTTG GATTGGTACC TGCAGAAGCC
AGGGCAGTCT CCACAGCTCC TGATCTATTT GGGTTCTAAT CGGGCCTCCG GGGTCCCTGA CAGGTTCAGT
GGCAGTGGAT CAGGCACAGA TTTTACACTG AAAATCAGCA GAGTGGAGGC TGAGGATGTT GGGGTTTATT
ACTGCATGCA AGCTCTACAA ACCCCTCTCA CTTTCGGCCC TGGGACCAAA GTGGATATCA AA
```

L6 (SEQ ID NO:11)

```
      GAT GTTGTGATGA CTCAGTCTCC ACTCTCCCTG GCCGTCACCC CTGGAGAGCC GGCCTCCATC
TCCTGCAGGT CTAGTCAGAG CCTCCTGCAT AGTAATGGAT ACAACTATTT GGATTGGTAC CTGCAGAAGC
CAGGGCAGTC TCCACAGCTC CTGATCTATT TGGGTTCTAA TCGGGCCTCC GGGGTCCCTG ACAGGTTCAG
TGGCAGTGGA TCAGGCACAG ATTTTACACT GAAAATCAGC AGAGTGGAGG CTGAGGATGT TGGGGTTTAT
TACTGCATGC AAGCTCTACA AACTCCGCTC ACTTTCGGCG GAGGGACCAA GGTGGAGATC AAA
```

L7 (SEQ ID NO:13)

```
       GAT GTTGTGATGA CTCAGTCTCC ACTCTCCCTG CCCGTCACCC CTGGAGAGCC GGCCTCCATC
TCCTGCAGGT CTAGTCAGAG CCTCCTGCAT AGTAATGGAT ACAACTATTT GGATTGGTAC CTGCAGAAGC
CAGGGCAGTC TCCACAGCTC CTGATCTATT TGGGTTCTAA TCGGGCCTCC GGGGTCCCTG ACAGGTTCAG
TGGCAGTGGA TCAGGCACAG ATTTTACACT GAAAATCAGC AGAGTGGAGG CTGAGGATGT TGGGGTTTAT
TACTGCATGC AAGCTCTACA AACTCCTCTC ACTTTCGGCG GAGGGACCAA GGTGGAGATC AAA
```

L8 (SEQ ID NO:15)

```
 GATGTTGTG ATGACTCAGT CTCCAGTCTC CCTGCCCGTC ACCCCTGGAG AGCCGGCCTC CATCTCCTGC
AGGTCTAGTC AGAGCCTCCT GCATAGTAAT GGATACAACT ATTTGGATTG GTACCTGCAG AAGCCAGGGC
AGTCTCCACA GCTCCTGATC TATTTGGGTT CTAATCGGGC CTCCGGGGTC CCTGACAGGT TCAGTGGCAG
TGGATCAGGC ACAGATTTTA CACTGAAAAT CAGCAGAGTG GAGGCTGAAG ATGTTGGGGT TTATTACTGT
ATGCAAGCTC TACAAACCCC CCTCACTTTC GGCGGAGGGA CCAAGGTGGA GATCAAA
```

L9 (SEQ ID NO:17)

```
      GATG TTGTGATGAC TCAGTCTCCA CTCTCCCTGC CCGTCACCCC TGGAGAGCCG GCCTCCATCT
CCTGCAGGTC TAGTCAGAGC CTCCTGCATA GTAATGGATA CAACTATTTG GATTGGTACC TGCAGAAGCC
AGGGCAGTCT CCACAGCTCC TGATCTATTT GGGTTCTAAT CGGGCCTCCG GGGTCCCTGA CAGGTTCAGT
GGCAGTGGAT CAGGCACAGA TTTTACACTG AAAATCAGCA GAGTGGAGGC TGAGGATGTT GGGGTTTATT
ACTGCATGCA AGCTCTACAA ACTCCGTTCA CCTTCGGCCA AGGGACACGA CTGGAGATTA AA
```

183

L10 (SEQ ID NO:19)

GATGTTGTGA TGACTCAGTC TCCACTCTCC CTGCCCGTCA CCCCTGGAGA GCCGGCCTCC ATCTCCTGCA
GGTCTAGTCA GAGCCTCCTG CATAGTAATG GATACAACTA TTTGGATTGG TACCTGCAGA AGCCAGGGCA
GTCTCCACAG CTCCTGATCT ATTTGGGTTC TAATCGGGCC TCCGGGGTCC CTGACAGGTT CAGTGGCAGT
GGATCAGGCA CAGATTTTAC ACTGAAAATC AGCAGAGTGG AGGCTGAGGA TGTTGGGGTT TATTACTGCA
TGCAAGCTCT ACAAACTCCT CTGGCGTTCG GCCAAGGGAC CAAGGTGGAA ATCAAA

L11 (SEQ ID NO:21)

GAAATTGT GCTGACTCAG TCTCCACTCT CCCTGCCCGT CACCCCTGGA GAGCCGGCCT CCATCTCCTG
CAGGTCTAGT CAGAGCCTCC TGCATAGTAA TGGATACAAC TATTTGAATT GGTACCTGCA GAAGCCAGGG
CAGTCTCCAC AGCTCCTGAT CTATTTGGGT TCTAATCGGG CCTCCGGGGT CCCTGACAGG TTCAGTGCCA
GTGGATCAGG CACAGATTTT ACACTGAAAA TCAGCAGAGT GGAGGCTGAG GATGTTGGGG TTTATTACTG
CATGCAAGCT CTACAAACTC CTATCACCTT CGGCCAAGGG ACACGACTGG AGATTAAA

L12 (SEQ ID NO:23)

AATT TTATGCTGAC TCAGCCCCAC TCTGTGTCGG AGTCTCCGGG GAAGACGGTA ACCATCTCCT
GCACCCGCAG CAGTGGCAGC ATTGCCAGCA ACTATGTGCA GTGGTACCAG CAGCGCCCGG GCAGTTCCCC
CACCACTGTG ATCTATGAGG ATAACCAAAG ACCCTCTGGG GTCCCTGATC GGTTCTCTGG CTCCATCGAC
AGCTCCTCCA ACTCTGCCTC CCTCACCATC TCTGGACTGA AGACTGAGGA CGAGGCTGAC TACTACTGTC
AGTCTTATGA TAGCAGCAAT CAGAGAGTGT TCGGCGGAGG GACCAAGCTG ACCGTCCTA

L13 (SEQ ID NO:25)

GAT GTTGTGATGA CTCAGTCTCC ACTCTCCCTG CCCGTCACCC CTGGAGAGCC GGCCTCCATC
TCCTGCAGGT CTAGTCAGAG CCTCCTGCAT AGTAATGGAT ACAACTATTT GGATTGGTAC CTGCAGAAGC
CAGGGCAGTC TCCACAGCTC CTGATCTATT TGGGTTCTAA TCGGGCCTCC GGGGTCCCTG ACAGGTTCAG
TGGCAGTGGA TCAGGCACAG ATTTTACACT GAAAATCAGC AGAGTGGAGG CTGAGGATGT TGGGGTTTAT
TACTGCATGC AAGCTCTACA AACCCCGCTC ACTTTCGGCG GAGGGACCAA GGTGGAGATC AAA

L14 (SEQ ID NO:27)

G ATGTTGTGAT GACTCAGTCT CCACTCTCCC TGCCCGTCAC CCCTGGAGAG CCGGCCTCCA
TCTCCTGCAG GTCTAGTCAG AGCCTCCTGC ATAGTAATGG ATACAACTAT TTGGATTGGT ACCTGCAGAA
GCCAGGGCAG TCTCCACAGC TCCTGATCTA TTTGGGTTCT AATCGGGCCT CCGGGGTCCC TGACAGGTTC
AGTGGCAGTG GATCAGGCAC AGATTTTACA CTGAAAATCA GCAGAGTGGA GGCTGAGGAT GTTGGGGTTT
ATTACTGCAT GCAAGCTCTA CAAACTCCTC TTACTTTCGG CGGAGGGACC AAGGTGGAGA TCAAA

L15 (SEQ ID NO:29)

GATGTTGTG ATGACTCAGT CTCCACTCTC CCTGCCCGTC ACCCCTGGAG AGCCGGCCTC CATCTCCTGC
AGGTCTAGTC AGAGCCTCCT GCATAGTAAT GGATACAACT ATTTGGATTG GTACCTGCAA AAGCCAGGGC
AGTCTCCACA GCTCCTGATC TATTTGGGTT CTTATCGGGC CTCCGGGGTC CCTGACAGGT TCAGTGCCAG
TGGATCAGGC ACAGATTTTA CACTGAAAAT CAGCAGAGTG GAGGCTGAGG ATGTTGGGGT TTATTACTGC
ATGCAAGCTC TACAAACTCC GATCACCTTC GGCCAAGGGA CACGACTGGA GATTAAA

L16 (SEQ ID NO:31)

GATGTTGTG ATGACTCAGT CTCCACTCTC CCTGCCCGTC ACCCCTGGAG AGCCGGCCTC CATCTCCTGC
AGGTCTAGTC AGAGCCTCCT GCATAGTAAT GGATACAACT ATTTGGATTG GTACCTGCAG AAGCCAGGGC
AGTCTCCACA GCTCCTGATC TATTTGGGTT CTAATCGGGC CTCCGGGGTC CCTGACAGGT TCAGTGGCAG
TGGATCAGGC ACAGATTTTA CACTGAAAAT CAGCAGGGTG GAGGCTGAGG ATGTTGGGGT TTATTACTGC
ATGCAAGGTA CACACTGGCC TCTGACGTTC GGCCAAGGGA CCAAGGTGGA GATCAAA

L17 (SEQ ID NO:33)

GAAATTG TGATGACGCA GTCTCCACTC TCCCTGCCCG TCACCCCTGG AGAGCCGGCC TCCATCTCCT
GCAGGTCTAG TCAGAGCCTC CTGCATAGTA ATGGATACAA CTATTTGGAT TGGTACCTGC AGAAGCCAGG
GCAGTCTCCA CAGCTCCTGA TCTATTTGGG TTCTAATCGG GCCTCCGGGG TCCCTGACAG GTTCAGTGGC
AGTGGATCAG GCACAGATTT TACACTGAAA ATCAGCAGAG TGGAGGCTGA GGATGTTGGG GTTTATTACT
GCATGCAAGC TCTACAAACT CCTCTCACTT TCGGCGGAGG GACCAAGGTG GAGATCAAA

L18 (SEQ ID NO:35)

GAC ATCCAGTTGA CCCAGTCTCC ATCTTCCGTG TCTGCGTCTG TCGGAGACAG AGTCACCATC
ACTTGTCGGG CGAGTCAGGG TATTAGCAGG TGGTTAGCCT GGTATCAACA GAAACCAGGG AAAGCCCCTA
GACTCCTGAT CTATGCTGCG TCCGGTTTAC AAAGTGGGGT CCCATCAAGG TTCAGCGGCA GTGGATCTGG
GACAGATTTC ACTCTCACCA TCAGCAACCT GCAGCCTGAA GATTTTGCAA CTTACTATTG TCAACAGGCT
AGCAGTTTTC CAATCACCTT CGGCCAAGGG ACACGACTGG AGACTAAA

L19 (SEQ ID NO:37)

GAT GTTGTGATGA CTCAGTCTCC ACTCTCCCTG CCCGTCACCC CTGGAGAGCC GGCCTCCATC
TCCTGCAGGT CTAGTCAGAG CCTCCTGCAT AGTAATGGAT ACAACTATTT GGATTGGTAC CTGCAGAAGC
CAGGGCAGTC TCCACAGCTC CTGATCTATT TGGGTTCTAA TCGGGCCTCC GGGGTCCCTG ACAGGTTCAG
TGGCAGTGGA TCAGGCACAG ATTTTACACT GAAAATCAGC AGAGTGGAGG CTGAGGATGT TGGAGTTTAT
TACTGCATGC AAGCTCTACA AACTCCGTAC ACTTTTGGCC AGGGGACCAA GCTGGAGATC AAA

L20 (SEQ ID NO:39)

GATGTTGTG ATGACTCAGT CTCCACTCTC CCTGCCCGTC ACCCCTGGAG AGCCGGCCTC CATCTCCTGC
AGGTCTAGTC AGAGCCTCCT GCATAGTAAT GGATACAACT ATTTGGATTG GTACCTGCAG AAGCCAGGGC
AGTCTCCACA GCTCCTGATC TATTTGGGTT CTAATCGGGC CTCCGGGGTC CCTAACAGGT TCAGTGGCAG
TGGATCAGGC ACAGATTTTA CACTGAAAAT CAGCAGAGTG GAGGCTGAGG ATGTTGGGGT TTATTACTGC
ATGCAAGCTC TACAAACTCC ATTCACTTTC GGCCCTGGGA CCAAAGTGGA TATCAAA

L21 (SEQ ID NO:41)

GATGTTGTG ATGACTCAGT CTCCACTCTC CCTGCCCGTC ACCCCTGGAG AGCCGGCCTC CATCTCCTGC
AGGTCTAGTC AGAGCCTCCT GCATAGTCAT GGATACAACT ATTTGGATTG GTACCTGCAG AAGCCAGGGC
AGTCTCCACA ACTTCTGATC TATTTGGGTT CTTATCGGGC CTCCGGGGTC CCTGACAGGT TCAGTGGCAG
TGGATCAGGC ACAGATTTTA CACTGAAAAT CAGCAGAGTG GAGGCTGAGG ATGTTGGGGT TTATTACTGC
ATGCAATCTC TAGAAGTTCC GTTCACTTTT GGCCAGGGGA CCAAGCTGGA GATCAAA

L22 (SEQ ID NO:43)

TCT TCTGAGCTGA CTCAGGACCC TGCTGTGTCT GTGGCCTTGG GACAGACAGT CAGGATCACA
TGCCAAGGAG ACAGCCTCAG AATTTATTAT ACAGGCTGGT ACCAACAGAA GCCAGGACAG GCCCCTGTGC
TTGTCCTCTT TGGTAAGAAC AATCGGCCCT CAGGGATCCC AGACCGATTC TCTGGCTCCC ACTCAGGGAA
CACAGCTTCC TTGACCATCA CTGGGGCTCA AGCGGAAGAT GAGGCTGACT ATTACTGTAA CTCCCGGGAC
ATCACTGGTG TCCATCGATT CGGCGGAGGG ACCAAGCTGA CCGTCCTA

L23 (SEQ ID NO:45)

GAA ATTGTGCTGA CTCAGTCTCC ACTCTCCCTG CCCGTCACCC CTGGAGAGCC GGCCTCCATC
TCCTGCAGGT CTAGTCAGAG CCTCCTGCAT AGTAATGGAT ACAACTATTT GGATTGGTAC CTGCAGAAGC
CAGGGCAGTC TCCACAGCTC CTGATCTATT TGGGTTCTAA TCGGGCCTCC GGGGTCCCTG ACAGGTTCAG
TGGCAGTGGA TCAGGCACAG ATTTTACACT GAAAATCAGC AGAGTGGAGG CTGAGGATGT TGGGGTTTAT
TACTGCATGC AAGCTCTACA AACTCCTCTC ACTTTCGGCG GAGGGACCAA GGTGGAGATC AAA

L24 (SEQ ID NO:47)

GAT GTTGTGATGA CTCAGTCTCC ACTCTCCCTG CCCGTCACCC CTGGAGAGCC GGCCTCCATC
TCCTGCAGGT CTAGTCAGAG CCTCCTGCAT AGTAATGGAT ACAACTATTT GGATTGGTAC CTGCAGAAGC
CAGGGCAGTC TCCACAGCTC CTGATCTATT TGGGTTCTAA TCGGGCCTCC GGGGTCCCTG ACAGGTTCAG
TGGCAGTGGA TCAGGCACAG ATTTTACACT GAAAATCAGC AGAGTGGAGG CTGAGGATGT TGGGGTTTAT
TACTGCATGC AAGCTCTACA AACTCCTAAC ACTTTCGGCG GAGGGACCAA GGTGGAGATC AAA

L25 (SEQ ID NO:49)

GATGTTGTG ATGACTCAGT CTCCACTCTC CCTGCCCGTC ACCCCTGGAG AGCCGGCCTC CATCTCCTGC
AGGTCTAGTC AGAGCCTCCT GCATAGTAAT GGATACAACT ATTTGGATTG GTACCTGCAG AAGCCAGGGC
AGTCTCCACA GCTCCTGATC TATTTGGGTT CTAATCGGGC CTCCGGGGTC CCTGACAGGT TCAGTGGCAG
TGGATCAGGC ACAGATTTTA CACTGAAAAT CAGCAGAGTG GAGGCTGAGG ATGTTGGGGT TTATTACTGC
ATGCAAGCTC TACAAACTCC AATCACTTTC GGCCCTGGGA CCAAAGTGGA TATCAAA

L26 (SEQ ID NO:51)

GATGTTGT GATGACTCAG TCTCCACTCT CCCTGCCCGT CACCCCTGGA GAGCCGGCCT CCATCTCCTG
CAGGTCTAGT CAGAGCCTCC TGCATAGTAA TGGATACACC TATTTGGATT GGTACCTGCA GAAGCCAGGG
CAGTCTCCAC AACTCCTGAT CTATTTGGGT TCTAATCGGG CCTCCGGGGT CCCTGACAGG TTCAGCGGCA
GTGGATCAGG CACAGATTTT ACACTGAAAA TCAGCAGAGT GGAGCCTGAG GATGTTGGGG TCTATTACTG
CATGCAAGCT CTAGAAATGC CCCTCACTTT CGGCGGAGGG ACCAAGGTGG AGATCAAA

L27 (SEQ ID NO:53)

GAC ATCCAGTTGA CCCAGTCTCC ATCCTTCCTG TCTGCATCTG TAGGAGACAG AGTCACCATC
ACTTGCCGGG CCAGTCAGGG CATTAGCAGT TATTTAGCCT GGTATCAGCA AAAACCAGGG AAAGCCCCTA
AGCTCCTGAT CTATGCTGCA TCCACTTTGC AAAGTGGGGT CCCATCAAGG TTCAGCGGCA GTGGATCTGG
GACAGAATTC ACTCTCACAA TCAGCAGCCT GCAGCCTGAA GATTTTGCAA CTTATTACTG TCAACAGCTT
AATAGTTACC CCCTCACTTT CGGCGGAGGG ACCAAGGTGG AGATCAAA

L28 (SEQ ID NO:55)

TC CTATGTGCTG ACTCAGCCAC CCTCAGTGTC CGTGTCCCCA GGACAGACAG CCAGCATCAC
CTGCTCTGGA GATAAATTGG GGGATAAATA TGTTGGCTGG TATCAGCAAA AGGCAGGCCA AGCCCCTGTT
TTGGTCATCT ATCAAGACAA CAAGCGACCC TCAGGGATCC CTGAGCGATT CTCTGGCTCC AACTCTGGGA
ACACAGCCAG TCTGACCATC AGCGGGACCC AGGCTATGGA TGAGGCTGAC TATTACTGTC AGGCGTGGGA
CAGCGGCACG GTGTTCGGCG GAGGGACCAA GCTGACCGTC CTA

L29 (SEQ ID NO:57)

GATG TTGTGATGAC TCAGTCTCCA CTCTCCCTGC CCGTCACCCC TGGAGAGCCG GCCTCCATCT
CCTGCAGGTC TAGTCAGAGC CTCCTGCATA GTAATGGATA CAACTATTTG GATTGGTACC TGCAGAAGCC
AGGGCAGTCT CCACAGCTCC TGATCTATTT GGGTTCTAAT CGGGCCTCCG GGGTCCCTGA CAGGTTCAGT
GGCAGTGGAT CAGGCACAGA TTTTACACTG AAAATCAGCA GAGTGGAGGC TGAGGATGTT GGGGTTTATT
ACTGCATGCA AGCTCTACAA ACCCCCCTCA CTTTCGGCGG AGGGACCAAG GTGGAGATCA AA

L30 (SEQ ID NO:59)

GATGTTGTG ATGACTCAGT CTCCACTCTC CCTGCCCGTC ACCCCTGGAG AGCCGGCCTC CATCTCCTGC
AGGTCTAGTC AGAGCCTCCT GCATAGTAAT GGATACAACT ATTTGGATTG GTACCTGCAG AAGCCAGGGC
AGTCTCCACA GCTCCTGATC TATTTGGGTT CTAATCGGGC CTCCGGGGTC CCTGACAGGT TCAGTGGCAG
TGGATCAGGC ACAGATTTTA CACTGAAAAT CAGCAGAGTG GAGGCTGAGG ATGTTGGGGT TTATTACTGC
ATGGAAGCTC TACAAACTCC ATTCACTTTC GGCCCTGGGA CCAAGGTGGA AATCAAA

L31 (SEQ ID NO:61)

GACATC CAGTTGACCC AGTCTCCATC CTCCCTGTCT GCGTCTGTGG GAGACAGAGT CACCATCACT
TGCCGGTCAA GTCAAGGCAT TGGTTACTTC TTAAATTGGT ATCAGCAGGA ACCAGGGAAA GCCCCAAAGA
TCCTGATCTC TGCTGCATCC ACTTTGCAAA GTGGGGTCCC ATCAAGGTTC AGTGGCAGTG GATCTGGGAC
AGATTTCACA CTCTCCATCA ACAATCTGCA ACCCGCAGAT TTTGCGACAT ACTACTGTCA ACAGAGTCAC
AGTCCCCCGT ACACTTTCGG CCAGGGGACC AAGGTGGAGA TCAAA

L32 (SEQ ID NO:63)

GAT GTTGTGATGA CTCAGTCTCC ACTCTCCCTG CCCGTCACCC CTGGAGAGCC GGCCTCCATC
TCCTGCAGGT CTAGTCAGAG CCTCCTGCAT AGTAATGGAT ACAACTATTT GGATTGGTAC CTGCAGAAGC
CAGGGCAGTC TCCACAGCTC CTGATCTATT TGGGTTCTAA TCGGGCCTCC GGGGTCCCTG ACAGGTTCAG
TGGCAGTGGA TCAGGCACAG ATTTTACACT GAAAATCAGC AGAGTGGAGG CTGAGGATGT TGGGGTTTAT
TACTGCATGC AAGCTCTACA AACTCCGCTC ACTTTCGGCG GAGGGACCAA GGTGGAGATC AAA

L33 (SEQ ID NO:65)

GAAATTGTG CTGACTCAGT CTCCACTCTC CCTGCCCGTC ACCCCTGGAG AGCCGGCCTC CATCTCCTGC
AGGTCTAGTC AGAGCCTCCT GCATAGTAAT GGATACAACT ATTTGGATTG GTACCTGCAG AAGCCAGGGC
AGTCTCCACA GCTCCTGATG TATTTGGTTT CTAATCGGGC CTCCGGGGTC CCTGAGAGGT TCAGTGGCAG
TGGATCAGGC ACAGATTTTA CACTGAAAAT CAGCAGAGTG GAGGCTGAGG ATGTTGGGGT TTATTACTGC
ATGCAAACTC TACAAACTCC TCTCAGTTTT GGCCAGGGGA CCAAGCTGGA GATCAAA

L34 (SEQ ID NO:67)

GATGTTGTG ATGACTCAGT CTCCACTCTC CCTGCCCGTC ACCCCTGGAG AGCCGGCCTC CATCTCCTGC
AGGTCTAGTC AGAGCCTCCT GCATAGTAAT GGATACAACT ATTTGGATTG GTACCTGCAG AAGCCAGGGC
AGTCTCCACA GCTCCTGATC TATTTGGGTT CTAATCGGGC CTCCGGGGTC CCTGACAGGT TCAGTGGCAG
TGGATCAGGC ACAGATTTTA CACTGAAAAT CAGCAGAGTG GAGGCTGAGG ATGTTGGGGT TTATTACTGC
ATGCAAGCTC TACAAACTCC GCTCACTTTC GGCGGAGGGA CCAAGGTGGA GATCAAA

L35 (SEQ ID NO:69)

AATTTTATG CTGACTCAGC CCCACTCTGT GTCGGCGTCT CCGGGGAAGA CGGTTACCAT CTCCTGCACC
CGCAGCAGTG GCGACATTGA CAACAACTAT GTGCAGTGGT ACCAGCAGCG CCCGGGCAAT TCCCCCACCA
ATGTGATTTA TGAGGATAAC CGAAGACCCT CTGGGGTCCC GGATCGCTTC TCTGGCTCCA TCGACAGCTC
CTCCAACTCT GCCTCCCTCA CCATCTCTGG ACTGCAGCCT GAGGACGAGG CTGACTACTA TTGTCAGTCT
TATCAAAGCG ACAATTGGGT GTTCGGCGGA GGGACCAAGG TGACCGTCCT A

L36 (SEQ ID NO:71)

AATTTTATG CTGACTCAGC CCCACTCTGT GTCGGAGTCT CCGGGGAAGA CGGTAACCAT CTCCTGCACC
CGCAGCAGTG GCAGCATTGC CAGCAACTAT GTGCAGTGGT ACCAGCAGCG CCCGGGCAGT TCCCCCACCA
CTGTGATCTA TGAGGATAAC CAAAGACCCT CTGGGGTCCC TGATCGATTC TCTGGCTCCA TCGACAGCTC
CTCCAACTCT GCCTCCCTCA CCATCTCTGG ACTGAAGACT GAGGACGAGG CTGACTACTA CTGTCAGTCT
TATGATAGCA GCAATGTGGT GTTCGGCGGA GGGACCAAGC TGACCGTCCT A

L37 (SEQ ID NO:73)

GATGTTGTGA TGACTCAGTC TCCACTCTCC CTGCCCGTCA CCCCTGGGGA GCCGGCCTCC ATCTCCTGCA
GGTCTAGTCA GAGCCTCCTG CATAGTAATG GATACAACTA TTTGGATTGG TACCTGCAGA AGCCAGGGCA
GTCTCCACAG CTCCTGATCT ATTTGGGTTC TAACCGGGAC TCTGGGGTCC CAGACAGATT CAGCGGCAGT
GGGTCAGGCA CTGATTTCAC ACTGAAAATC AGCAGGGTGG AGGCTGAGGA TGTTGGGGTT TATTACTGCA
TGCAAGGTAC ACACTGGCCG TACACTTTTG GCCAGGGGAC CAGGCTGGAG ATCAAA

L38 (SEQ ID NO:75)

GATGTTGT GATGACTCAG TCTCCACTCT CCCTGCCCGT CACCCCTGGA GAGTCGGCCT CCATCTCCTG
CAGGTCTAGT CAGAGCCTCC TGCATAGTAA TGGATACAAC TTTTTGGATT GGTACCTGCA GAAGCCAGGG
CAGTCTCCAC AGCTCCTGAT CTATTTGGGT TCTAATCGGG CCTCCGGGGT CCCTGACAGG TTCAGTGGCA
GTGGATCAGG CACAGATTTT ACACTGAAAA TCAGCAGAGT GGAGGCTGAG GATGTTGGGG TTTATTACTG
CATGCAAGCT CTACAAACTC CTCTCACTTT CGGCGGAGGG ACCAAGGTGG AGATCAAA

L39 (SEQ ID NO:77)

GA TGTTGTGATG ACTCAGTCTC CACTCTCCCT GCCCGTCACC CCTGGAGAGC CGGCCTCCAT
CTCCTGCAGG TCTAGTCAGA GCCTCCTGCA TAGTAATGGA TACAACTATT TGGATTGGTA CCTGCAGAAG
CCAGGGCAGT CTCCACAGCT CCTGATCTAT TTGGGTTCTA ATCGGGCCTC CGGGGTCCCT GACAGGTTCA
GTGGCAGTGG ATCAGGCACA GATTTTACAC TGAAAATCAG CAGAGTGGAG GCTGAGGATG TTGGGGTTTA
TTACTGCATG CAAGCTCTAC AAACCCCCCT CACTTTCGGC GGAGGGACCA AGGTGGAGAT CAAA

L40 (SEQ ID NO:79)

GAAACGAC ACTCACGCAG TCTCCAGCCA CCCTGTCTTT GTCTCCAGGG CAAAGAGCCA CCCTCTCCTG
CAGGGCCAGT CAGAGTGTCT ACAACTACTT AGCCTGGTAC CAACAGAAGC CTGGCCAGGC TCCCAGGCTC
CTCATCTATG ATGCATCCAG AAGGGCAACT GGCATCCCAG CCAGGTTCAG TGGCAGTGGG TCTGGGACAG
ACTTCACTCT CACCATCAGC AGCCTAGAGC CTGAAGATTT TGCAGTTTAT TACTGTCAGC AGCGTAACAA
CTGGCCGCTC ACTTTCGGTG GAGGGACCAA GGTGGAGATC AAA

L41 (SEQ ID NO:81)

GACAT CCAGTTGACC CAGTCTCCAT CCTCCCTGTC TGCTTCTGTT GGAGACAGCG TCACCATCTC
TTGCCGGGCA AGTCAGAGTC CTGGCATCTT TTTAAATTGG TATCAGCAGA TACCAGGGAA AGCCCCTAAA
CTCCTGATCT ACGCTACATC CACTCTGGAA AGTGGGGTCC CCCCCAGGTT CACCGGCAGT GGATCTGGGA
CAGATTTCAC TCTCACCATC AGCAGTCTGC AACCTGAGGA CTTTGCAACT TACTACTGTC AACAGAGTAA
CAGTGTTCCG CTCACTTTCG GCGGCGGGAC CAAGGTGGAG ATCAAA

L42 (SEQ ID NO:83)

GATGT TGTGATGACT CAGTCTCCAC TCTCCCTGCC CGTCACCCCT GGAGAGCCGG CCTCCATCTC
CTGCAGGTCT AGTCAGAGCC TCCTGCATAG TAATGGATAC AACTATTTGG ATTGGTACCT GCAGAAGCCA
GGGCAGTCTC CACAGCTCCT GATCTATTTG GGTTCTAATC GGGCCTCCGG GGTCCCTGAC AGGTTCAGTG
GCAGTGGATC AGGCACAGAT TTTACACTAA AAATCAGCAG AGTGGAGGCT GAGGATGTTG GGGTTTATTA
CTGCATGCAA GCTCTACAAA CTCCTCTAAC CTTCGGCCAA GGGACACGAC TGGAGATTAA A

L43 (SEQ ID NO:85)

GAAATT GTGATGACGC AGTCTCCAGC CACCCTGTCT GTGTCTCCAG GGGAAAGAGC CACCTTCTCC
TGTAGGGCCA GTCAGAGTGT TGGCAGCAAC TTAGCCTGGT ACCAGCAGAA ACCTGGCCAG GCTCCCAGGC
TCCTCATCTA TGATGCATCC AACAGGGCCA CTGGCATCCC AGCCAGGTTC AGTGGCAGTG GGTCTGGGAC
AGACTTCACT CTCACCATCA GCAGACTGGA GCCTGAAGAT TTTGCAGTGT ATTACTGTCA GCAGCGTAGC
AACTGGCCCC TCACTTTCGG CGGAGGGACC AAGGTGGAGA TCAAA

L44 (SEQ ID NO:87)

GATGT TGTGATGACT CAGTCTCCAC TCTCCCTGCC CGTCACCCCT GGAGAGCCGG CCTCCATCTC
CTGCAGGTCT AGTCAGAGCC TCCTGCATAG TAATGGATAC AACTATTTGG ATTGGTACCT GCAGAAGCCA
GGGCAGTCTC CACAGCTCCT GATCTATTTG GGTTCTAATC GGGCCTCCGG GGTCCCTGAC AGGTTCAGTG
GCAGTGGATC AGGCACAGAT TTTACACTGA AAATCAGCAG AGTGGAGGCT GAGGATGTTG GGGTTTATTA
CTGCATGCAA GCTCTACAAA CTCCGCTCAC TTTCGGCGGA GGGACCAAGG TGGAGATCAA A

L45 (SEQ ID NO:89)

GAT GTTGTGATGA CTCAGTCTCC ACTCTCCCTG CCCGTCACCC CTGGAGAGCC GGCCTCCATC
TCCTGCAGGT CTAGTCAGAG CCTCCTGCAT AGTAATGGAT ACAACTATTT GGATTGGTAC CTGCAGAAGC
CAGGGCAGTC TCCACAGCTC CTGATCTACT TGGGTTCTAC TCGGGCCTCC GGCGTCCCTG ACAGGTTCAG
TGGCAGTGGA TCAGGCACAG ATTTTACACT GAAAATCAGC AGAGTGGAGG CTGAGGATGT TGGGGTTTAT
TACTGCATGC AAGCTCTACA AACTCCTTAC ACTTTCGGCG GAGGGACCAA GGTGGAGATC AAA

L46 (SEQ ID NO:91)

GATGT TGTGATGACT CAGTCTCCAC TCTCCCTGCC CGTCACCCCT GGAGAGCCGG CCTCCATCTC
CTGCAGGTCT AGTCAGAGCC TCCTGCATAG TAATGGATAC AACTATTTGG ATTGGTACCT GCAGAAGCCA
GGGCAGTCTC CACAGCTCCT GATCTATTTG GGTTCTAATC GGGCCTCCGG GGTCCCTGAC AGGTTCAGTG
GCAGTGGATC AGGCACAGAT TTTACACTGA AAATCAGCAG AGTGGAGGCT GAGGATGTTG GGGTTTATTA
CTGCATGCAA GCTCTACAAA CTCCCCTCAC TTTCGGCGGA GGGACCAAGG TGGAGATCAA A

L47 (SEQ ID NO:93)

GATGT TGTGATGACT CAGTCTCCAC TCTCCCTGCC CGTCACCCCT GGAGAGCCGG CCTCCATCTC
CTGCAGGTCT AGTCAGAGCC TCCTGCATAC TAATGGATAC AACTATTTGG ATTGGTACCT GCAGAAGCCA
GGGCAGTCTC CACGGCTCCT GATCTATTTG GGTTTTAATC GGGCCTCCGG GGTCCCTGAC AGGTTCAGTG
GCAGTGGATC AGGCACAGAT TTTACACTGA AAATCAGCAG AGTGGAGGCT GAGGATGTTG GGGTTTATTA
CTGTATGCAA GGTCTACAAA CTCCCCTCAC TTTCGGCGGA GGGACCAAGG TGGAGATCAA A

L48 (SEQ ID NO:95)

GATGTTGTG ATGACTCAGT CTCCACTCTC CCTGCCCGTC ACCCCTGGAG AGCCGGCCTC CATCTCCTGC
AGGTCTAGTC AGAGCCTCCT GCATAGTAAT GGATACAACT ATTTGGATTG GTACCTGCAG AAGCCAGGGC
AGTCTCCACA GCTCCTGATC TATTTGGGTT CTAATCGGGC CTCCGGGGTC CCTGACAGGT TCAGTGGCAG
TGGATCAGGC ACAGATTTTA CACTGAAAAT CAGCAGGGTG GAGGCTGAGG ATGTTGGGGT TTATTATTGC
ATGCAAGCTA CACACTGGCC GTACACTTTT GGCCAGGGGA CCAAGCTGGA GATCAAA

L49(SEQ ID NO:97)

AATTTTA TGCTGACTCA GCCCCACTCT GTGTCGGAGT CTCCGGGGAA GACGGTAAGC ATCTCCTGCA
CCCGCAACAG TGGCAGCATT GCCAGCAACT TTGTGCAGTG GTACCAGCAG CGCCCGGGCA GTGCCCCCAC
CATTGTAATC TATGAGGATA ACCAAAGACC CTCTGCGGTC CCTACTCGGT TCTCTGGCTC CATCGACAGG
TCCTCCAACT CTGCCTCCCT CACCATCTCT GGACTGACGA CTGAGGACGA GGCTGACTAC TACTGTCAGT
CTTATGATAG CGCCAATGTC ATTTTCGGCG GGGGGACCAA GCTGACCGTC CTA

L50 (SEQ ID NO:99)

GAAACG ACACTCACGC AGTCTCCAGG CACCCTGTCT TTGTCTCCAG GGGAGAGAGC CACCCTCTCC
TGCAGGGCCA GTCAGACTAT CAGCAGCAGC CACTTAGCCT GGTACCAGCA GAAACCTGGC CAGTCTCCCA
GGCTCCTCAT CTATGGTGCG GGCTACAGGG CCACCGGCAT TCCAGACAGG TTCAGTGGCA GTGGGTCTGG
CACAGACTTC ACTCTCACCA TCAGCAGACT GGAGCCTGAA GATTTTGCAG TGTATTACTG TCAGCACTAT
GGTAGTTCAC TCCGGACGTT CGGCCAAGGG ACCAAGGTGG AAATCAAA

L51 (SEQ ID NO:101)

AATTTT ATGCTGACTC AGCCCCACTC TGTGTCGGAG TCTCCGGGGA AGACGGTAAC CATCTCCTGC
ACCGGCAGCG GTGGCAACAT TGCCAGCAAT TATGTGCAGT GGTACCAGCA GCGCCCGGGC AGGGCCCCCA
CCACTGTGAT CTATGAGGAT AATCGAAGAC CCTCTGGGGT CCCTGATCGG TTCTCTGGCT CCATCGACAG
CTCCTCCAAC TCTGCCTCCC TCACCATCTC TGGACTGAAG ACTGAAGACG AGGCTGACTA CTACTGTCAG
TCTTATGATC CCTACAATCG AGTGTTCGGC GGAGGGACCA AGCTGACCGT CCTA

L51 (SEQ ID NO:103)

GAAA TTGTGATGAC GCAGTCTCCA CTCTCCCTGC CCGTCACCCC TGGAGAGCCG GCCTCCATCT
CCTGCAGGTC TAGTCAGAGC CTCCTGCATA CTAATGGATA CGACTATTTG GATTGGTACC TGCAGAAGCC
AGGGCAGTCT CCACAGCTTC TGATCTATTT GGGTTCTACT CGGGCCTCCG GGGTCCCTGA CAGGTTCAGT
GGCAGTGGAT CGGGCACAGA TTTTACACTG AAAATCAGCA GAGTGGAGGC TGAGGATGTT GGGGTTTATT
ACTGCATGCA AGCTTTTCAA ACTCCGCTCA CTTTCGGCGG AGGGACCAAG ATGGAGATCA AA

H1 (SEQ ID NO:105)

GAGGTGCAGC TGGTGGAGAC CGGCCCAGGA CTGGTGAAGC CTTCGGGGAC CCTGTCCCTC ACCTGCGCTG
TCTCTGGTGG CTCCATCAGC AGTAGTAACT GGTGGAGTTG GGTCCGCCAG CCCCCAGGGA AGGGGCTGGA
GTGGATTGGG GAAATCTATC ATAGTGGGAG CACCAACTAC AACCCGTCCC TCAAGAGTCG AGTCACCATA
TCAGTAGACA AGTCCAAGAA CCAGTTCTCC CTGAAGCTGA GCTCTGTGAC CGCCGCGGAC ACGGCCGTGT
ATTACTGTGC GAGATTTAAT TACTATGATA GTAGTGTCTG GGGCCAGGGA ACCCTGGTCA CCGTCTCAAG
C

H2 (SEQ ID NO:107)

GAGGTGCAGC TGGTGGAGAC CGGCCCAGGA CTGGTGAAGC CTTCGGGGAC CCTGTCCCTC ACCTGCGCTG
TCTCTGGTGG CTCCATCAGC AGTAGTAACT GGTGGAGTTG GGTCCGCCAG CCCCCAGGGA AGGGGCTGGA
GTGGATTGGG GAAATCTATC ATAGTGGGAG CACCAACTAC AACCCGTCCC TCAAGAGTCG AGTCACCATA
TCAGTAGACA AGTCCAAGAA CCAGTTCTCC CTGAAGCTGA GCTCTGTGAC CGCCGCGGAC ACGGCCGTGT
ATTACTGTGC GAGAGGGGTT GAGCAGATTG ACTACTGGGG CCAGGGAACC CTGGTCACCG TCTCAAGC

H3 (SEQ ID NO:109)

CAGGTGCAGC TGCAGGAGTC GGGCCCAGGA CTGGTGAAGC CTTCGGGGAC CCTGTCCCTC ACCTGCGCTG
TCTCTGGTGG CTCCATCAGC AGTAGTAACT GGTGGAGTTG GGTCCGCCAG CCCCCAGGGA AGGGGCTGGA
GTGGATTGGG GAAATCTATC ATAGTGGGAG CACCAACTAC AACCCGTCCC TCAAGAGTCG AGTCACCATA

TCAGTAGACA AGTCCAAGAA CCAGTTCTCC CTGAAGCTGA GCTCTGTGAC TGCCGCGGAC ACGGCCGTGT
ATTACTGTGC GAAAAATTTA GCAGCAGGGG CGGTTGCCTA CTGGGGCCAG GGCACCCTGG TCACCGTCTC
AAGC

H4 (SEQ ID NO:111)

CAGGTGCAG CTACAGCAGT GGGGCGCAGG ACTGTTGAAG CCTTCGGAGA CCCTGTCCCT CACCTGCGCT
GTCTCTGGTG GGTCCTTCAG TGGTTACTAC TGGAGCTGGA TCCGTCAGCC CCCAGGGAAG GGGCTGGAGT
GGATTGGGGA AATCAATCAT AGTGGAAGTA CCAACTACAA CCGGTCCCTC AAGAGTCGAG TCACCATATC
AGTAGACACG TCCAAGAACC AGTTCTCCCT GAAGCTGAGC TCTGTGACCG CCGCGGACAC GGCTGTGTAT
TACTGTGCGA GACTTTCATA TGGTTCGGGC GTTGACTACT GGGGCCAGGG CACCCTGGTC ACCGTCTCAA
GC

H5 (SEQ ID NO:113)

C AGCTGCAGCT GCAGGAGTCG GGCCCAGGAC TGGTGAAGCC TTCACAGACC CTGTCCCTCA
CCTGCACTGT CTCTGGTGGC TCCATCAGCA GTAGTAACTG GTGGAGTTGG GTCCGCCAGC CCCCAGGGAA
GGGGCTGGAG TGGATTGGGG AAATCTATCA TAGTGGGAGC ACCAACTACA ACCCGTCCCT CAAGAGTCGA
GTCACCATAT CAGTAGACAA GTCCAAGAAC CAGTTCTCCC TGAAGCTGAG CTCTGTGACC GCCGCGGACA
CGGCCGTGTA TTACTGTGCG AGGTATAGCA GCAGCCGCAA TGATGCTTTT GATATCTGGG GCCAAGGGAC
AATGGTCACC GTCTCAAGC

H6 (SEQ ID NO:115)

CAGGTGCAGC TGCAGGAGTC GGGCCCAGGA CTGGTGAAGC CTTCGGGGAC CCTGTCCCTC ACCTGCGCTG
TCTCTGGTGG CTCCATCAGC AGTAGTAACT GGTGGAGTTG GGTCCGCCAG CCCCCAGGGA AGGGGCTGGA
GTGGATTGGG GAAATCTATC ATAGTGGGAG CACCAACTAC AACCCGTCCC TCAAGAGTCG AGTCACCATA
TCAGTAGACA AGTCCAAGAA CCAGTTCTCC CTGAAGCTGA GCTCTGTGAC CGCCGCGGAC ACGGCCGTGT
ATTACTGTGC GAGAGATGGG CAGCTGGATG CTTTTGATAT CTGGGGCCAA GGGACAATGG TCACCGTCTC
AAGC

H7 (SEQ ID NO:117)

CAGGTGCAGC TGCAGGAGTC GGGCCCAGGA CTGGTGAAGC CTTCGGGGAC CCTGTCCCTC ACCTGCGCTG
TCTCTGGTGG CTCCATCAGC AGTAGTAACT GGTGGAGTTG GGTCCGCCAG CCCCCAGGGA AGGGGCTGGA
GTGGATTGGG GAAATCTATC ATAGTGGGAG CACCAACTAC AACCCGTCCC TCAAGAGTCG AGTCACCATA
TCAGTAGACA AGTCCAAGAA CCAGTTCTCC CTGAAGCTGA GCTCTGTGAC CGCCGCGGAC ACGGCCGTGT
ATTACTGTGC GAGATTTTGG GACTACTACG GTATGGACGT CTGGGGCCAA GGGACCACGG TCACCGTCTC
AAGC

H8 (SEQ ID NO:119)

CAGGTG CAGCTACAGC AGTGGGGCCC AGGACTGGTG AAGCCTTCGG GGACCCTGTC CCTCACCTGC
GCTGTCTCTG GTGGCTCCAT CAGCAGTAGT AACTGGTGGA GTTGGGTCCG CCAGCCCCCA GGGAAGGGGC
TGGAGTGGAT TGGGGAAATC TATCATAGTG GGAGCACCAA CTACAACCCG TCCCTCGAGA GTCGAGTCAC
CATATCAGTA GACAAGTCCA AGAACCAGTT CTCCCTGAAG CTGAGCTCTG TGACCGCCGC AGACACGGCC
GTGTATTACT GTGCGAGAGA TCGGTACTAC GGTATGGACG TCTGGGGCCA AGGGACCACG GTCACCGTCT
CAAGC

H9 (SEQ ID NO:121)

G AGGTGCAGCT GGTCGAGTCT GGCCCAGGAC TGGTGAAGCC TTCGGGGACC CTGTCCCTCA
CCTGCGCTGT CTCTGGTGGC TCCATCAGCA GTAGTAACTG GTGGAGTTGG GTCCGCCAGC CCCCAGGGAA
GGGGCTGGAG TGGATTGGGT ACATCTATTA TAGTGGGAGC ACCTACTACA ACCCGTCCCT CAAGAGTCGA
GTCACCATGT CAGTAGACAC GTCCAAGAAC CAGTTCTCCC TGAAGCTGAG CTCTGTGACC GCCGCAGACA
CGGCCGTGTA TTACTGTGCG AGATGGAGCT ACTTGGATGC TTTTGATATC TGGGGCCAAG GGACAATGGT
CACCGTCTCA AGC

H10 (SEQ ID NO:123)

GAGGTGC AGCTGGTGGA GTCTGGCCCA GGACTGGTGA AGCCTTCGGG GACCCTGTCC CTCACCTGCG
CTGTCTCTGG TGGCTCCATC AGCAGTAGTA ACTGGTGGAG TTGGGTCCGC CAGCCCCCAG GGAAGGGGCT
GGAGTGGATT GGGGAAATCT ATCATAGTGG GAGCACCAAC TACAACCCGT CCCTCAAGAG TCGAGTCACC
ATATCAGTAG ACAAGTCCAA GAACCAGTTC TCCCTGAAGC TGAGCTCTGT GACCGCCGCG GACACGGCCG
TGTATTACTG TGCGAGAGAT TACGATATTT TCGGTATGGA CGTCTGGGGC CAAGGGACCA CGGTCACCGT
CTCAAGC

H11 (SEQ ID NO:125)

CAGCT GCAGCTGCAG GAGTCGGGCC CAGGACTGGT GAAGCCTTCG GGGACCCTGT CCCTCACCTG
CGCTGTCTCT GGTGGCTCCA TCAGCAGTAG TAACTGGTGG AGTTGGGTCC GCCAGCCCCC AGGGAAGGGG
CTGGAGTGGA TTGGGGAAAT CTATCATAGT GGGAGCACCA ACTACAACCC GTCCCTCAAG AGTCGAGTCA
CCATATCAGT AGACAAGTCC AAGAACCAGT CCTCCCTGAA GCTGAGCTCT GTGACCGCCG CGGACACGGC

CGTGTATTAC TGTGCGAGAG CCAACAGAGA TGATGCTTTT GATATCTGGG GCCAAGGGAC AATGGTCACC
GTCTCAAGC

H12 (SEQ ID NO:127)

GAGGTGC AGCTGGTGGA GTCTGGGGGA GGCTTGGTAC AGCCGGGGGG GTCCCTGAGA CTCTCCTGTG
CAGCCTCTGG ATTCACCTTT AGCAGCTATG CCATGAGCTG GGTCCGCCAG GCTCCAGGGA AGGGGCTGGA
GTGGGTCTCA GCTATTAGTG GTAGTGGTGG TAGCACATAC TACGCAGACT CCGTGAAGGG CCGGTTCACC
ATCTCCAGAG ACAATTCCAA GAACACGCTG TATCTGCAAA TGAACAGTCT GAGCGCCGAC GACACGGCCG
TATATTTCTG TGCGTCGGGT GGCTGGTACG GGGACTACTT TGACTACTGG GGCCAGGGAA CCCTGGTCAC
CGTCTCAAGC

H13 (SEQ ID NO:129)

CAGGTGCAGC TGCAGGAGTC CGGCCCAGGA CTGGTGAAGC CTTCGGAGAC CCTGTCCCTC ACCTGCACTG
TCTCTGGTGG CTCCATCAGC AGTAGTAACT GGTGGAGTTG GGTCCGCCAG CCCCCAGGGA AGGGGCTGGA
GTGGATTGGG GAAATCTATC ATAGTGGGAG CACCAACTAC AACCCGTCCC TCAAGAGTCG AGTCACCATA
TCAGTAGACA AGTCCAAGAA CCAGTTCTCC CTGAAGCTGA GCTCTGTGAC CGCCGCGGAC ACGGCCGTGT
ATTACTGTGC GAGAGAAGGG AACCGAACGG TGACTAGTGC TTTTGATATC TGGGGCCAAG GGACAATGGT
CACCGTCTCA AGC

H14 (SEQ ID NO:131)

CAGGTGCA GCTGCAGGAG TCCGGCCCAG GACTGGTGAA GCCTTCGGGG ACCCTGTCCC TCACCTGCGC
TGTCTCTGGT GGCTCCATCA GCAGTAGTAA CTGGTGGAGT TGGGTCCGCC AGCCCCCAGG GAAGGGGCTG
GAGTGGATTG GGGAAATCTA TCATAGTGGG AGCACCAACT ACAACCCGTC CCTCAAGAGT CGAGTCACCA
TATCAGTAGA CAAGTCCAAG AACCAGTTCT CCCTGAAGCT GAGCTCTGTG ACCGCTGCGG ACACGGCCGT
GTACTACTGT GCGAGAGGGC TGGGGGGATAG TAGTGGTTAT ATCCTTTGGG GCCAAGGGAC AATGGTCACC
GTCTCAAGC

H15 (SEQ ID NO:133)

CAGGTG CAGCTGCAGG AGTCCGGCCC AGGACTGGTG AAGCCTTCGG GGACCCTGTC CCTCACCTGC
GCTGTCTCTG GTGGCTCCAT CAGCAGTAGT AACTGGTGGA GTTGGGTCCG CCAGCCCCCA GGGAAGGGGC
TGGAGTGGAT TGGGGAAATC TATCATAGTG GGAGCACCAA CTACAACCCG TCCCTCAAGA GTCGAGTCAC
CATATCAGTA GACAAGTCCA AGAACCAGTT CTCCCTGAAG CTGAGCTCTG TGACCGCTGC GGACACGGCC
GTGTACTACT GTGCGAGAGG GCTGGGGGAT AGTAGTGGTT ATATCCTTTG GGGCCAAGGG ACAATGGTCA
CCGTCTCAAG C

H16 (SEQ ID NO:135)

CAGGTG CAGCTGCAGG AGTCGGGCCC AGGACTGGTG AAGCCTTCGG GGACCCTGTC CCTCACCTGC
GCTGTCTCTG GTGGCTCCAT CAGCAGTAGT AACTGGTGGA GTTGGGTCCG CCAGCCCCCA GGGAAGGGGC
TGGAGTGGAT TGGGGAAATC TATCATAGTG GGAGCACCAA CTACAACCCG TCCCTCAAGA GTCGAGTCAC
CATATCAGTA GACAAGTCCA AGAACCAGTT CTCCCTGAAG CTGAGCTCTG TGACCGCCGC GGACACGGCC
GTGTATTACT GTGCGAGATG GACCGGGCGT ACTGATGCTT TTGATATCTG GGGCCAAGGG ACAATGGTCA
CCGTCTCAAG C

H17 (SEQ ID NO:137)

CAGG TGCAGCTGCA GGAGTCCGGC CCAGGACTGG TGAAGCCTTC GGGGACCCTG TCCCTCACCT
GCGCTGTCTC TGGTGGCTCC ATCAGCAGTA GTAACTGGTG GAGTTGGGTC CGCCAGCCCC CAGGGAAGGG
GCTGGAGTGG ATTGGGGAAA TCTATCATAG TGGGAGCACC AACTACAACC CGTCCCTCAA GAGTCGAGTC
ACCATATCAG TAGACAAGTC CAAGAACCAG TTCTCCCTGA AGCTGAGCTC TGTGACCGCC GCGGACACGG
CCGTGTATTA CTGTGCGAGA CAAGGGGCGT TAGATGCTTT TGATATCTGG GGCCAAGGGA CCACGGTCAC
CGTCTCAAGC

H18 (SEQ ID NO:139)

GCAGCTGGTG GAGTCCGGGG GAGGCGTGGT CCGACCTGGG GGGTCCCTGA GACTCTCCTG TGCAGCGTCT
GGATTCACCT TTAGCAGCTA TGCCATGAGC TGGGTCCGCC AGGCTCCAGG GAAGGGGCTG GAGTGGGTCT
CAACTATTAG TGGTAGTGGT GGTAGCACAT ACTACGCAGA CTCCGTGAAG GGCCGGTTCA CCATCTCCAG
AGACAATTCC AAGAACACGC TGTATCTGCA GATGAACAGC CTGAGAGCCG AGGACACGGC CGTATATTAC
TGTGCGAAAG AGCGTGGCAG TGGCTGGTCC TTAGACAATA TGGACGTCTG GGGCCAAGGG ACCACGGTCA
CCGTCTCAAG C

H19 (SEQ ID NO:141)

CAGGTGCAGC TGGTGGAGTC TGGCCCAGGA CTGGTGAAGC CTTCGGGGAC CCTGTCCCTC ACCTGCGCTG
TCTCTGGTGG CTCCATCAGC AGTAGTAACT GGTGGAGTTG GGTCCGCCAG CCCCCAGGGA AGGGGCTGGA
GTGGATTGGG GAAATCTATC ATAGTGGGAG CACCAACTAC AACCCGTCCC TCAAGAGTCG AGTCACCATA
TCAGTAGACA AGTCCAAGAA CCAGTTCTCC CTGAAGCTGA GCTCTGTGAC CGCTGCGGAC ACGGCCGTGT
ATTACTGTGC GAGAGATAGC AGTGGGTTCT ACGGTATGGA CGTCTGGGGC CAAGGGACCA CGGTCACCGT
CTCAAGC

190

H20 (SEQ ID NO:143)

CAGGTG CAGCTGCAGG AGTCGGGCCC AGGACTGGTG AAGCCTTCGG GGACCCTGTC CCTCACCTGC
GCTGTCTCTG GTGGCTCCAT CAGCAGTAGT AACTGGTGGA GTTGGGTCCG CCAGCCCCCA GGGAAGGGGC
TGGAGTGGAT TGGGGAAATC TATCATAGTG GGAGCACCAA CTACAACCCG TCCCTCAAGA GTCGAGTCAC
CATATCAGTA GACAAGTCCA AGAACCAGTT CTCCCTGAAG CTGAGCTCTG TGACTGCCGC GGACACGGCC
GTGTATTACT GTGCGAGAAG CAGCAGCTGG TACTGGAATG CTTTTGATAT CTGGGGCCAA GGGACAATGG
TCACCGTCTC AAGC

H21 (SEQ ID NO:145)

CAGGTG CAGCTACAGC AGTGGGGCCC AGCACTGGTG AAGCCTTCGG GGACCCTGTC CCTCACCTGC
TCTGTCTCTG GTGTCTCCAT CACCAGTAAT ATCTGGTGGA GTTGGGTCCG CCAGTCCCCA GGGAAGGGGC
TGGAGTGGAT TGGGGAAGTC TATCATAGTG GGAGCACCAA CTACAACCCG TCCCTCAAGA GTCGAGTCAC
CATATCAGTA GACAAGTCCA AGAACCAGTT CTCCCTGAAG CTGAGCTCTG TGACCGCCGC GGACACGGCT
GTGTATTACT GTGCGGGGTA CCGTAGCTTC GGGGAGTCCT ACTGGGGCCA GGGAACCCTG GTCACCGTCT
CAAGC

H22 (SEQ ID NO:147)

CAGGTGCA GCTACAGCAG TGGGGCGCAG GGCTGTTGAA GCCTTCGGAG ACCCTGTCTC TCACCTGCGT
TGTCTATGGT GGGTCCTTCA GCGATTTCTA CTGGAGCTGG ATCCGCCAGC CCCCAGGGAA GGGGCCAGAG
TGGATTGGGG AAGTCAATCC TAGAGGAAGC ACCAACTACA ACCCGTCCCT CAAGAGTCGA GCCACCATAT
CACTAGACAC GTCCAAGAAC CAGTTCTCCC TGAAGCTGAG TTCTGTGACC GCCGCGGACA CGGCTGTGTA
TTTCTGTGCG AGAGGTCCTC GGCCCGGGAG AGATGGCTAC AATTACTTTG ACAACTGGGG CCAGGGCACC
CTGGTCACCG TCTCAAGC

H23 (SEQ ID NO:149)

CAGGTGCAGC TGCAGGAGTC GGGCCCAGGA CTGGTGAAGC CTTCGGAGAC CCTGTCCCTC ACCTGCACTG
TCTCTGGTGG CTCCATCAGC AGTAGTAACT GGTGGAGTTG GGTCCGCCAG CCCCCAGGGA AGGGGCTGGA
GTGGATTGGG GAAATCTATC ATAGTGGGAG CACCAACTAC AACCCGTCCC TCAAGAGTCG AGTCACCATA
TCAGTAGACA AGTCCAAGAA CCAGTTCTCC CTGAAGCTGA GCTCTGTGAC CGCCGCGGAC ACGGCCGTGT
ATTACTGTGC GAGAGGTATA GCAGCAGCTG GTCAAGGTGA CTACTGGGGC CAGGGAACCC TGGTCACCGT
CTCAAGC

H24 (SEQ ID NO:151)

CAGGTGCAGC TGCAGGAGTC GGGCCCAGGA CTGGTGAAGC CTTCGGAGAC CCTGTCCCTC ACCTGCACTG
TCTCTGGTGG CTCCATCAGC AGTAGTAGTT ACTACTGGGG CTGGATCCGC CAGCCCCCAG GGAAGGGGCT
GGAGTGGATT GGGAGTATCT ATTATAGTGG GAGCACCTAC TACAACCCGT CCCTCAAGAG TCGAGTCACC
ATATCCGTAG ACACGTCCAA GAACCAGTTC TCCCTGAAGC TGAGCTCTGT GACCGCCGCG GACACGGCCG
TGTATTACTG TGCGAGAGAT GGGGGATACT ACTACTACGG TATGGACGTC TGGGGCCAAG GGACCACGGT
CACCGTCTCA AGC

H25 (SEQ ID NO:153)

CAGGTG CAGCTGCAGG AGTCGGGCCC AGGACTGGTG AAGCCTTCGG GGACCCTGTC CCTCACCTGC
GCTGTCTCTG GTGGCTCCAT CAGCAGTAGT AACTGGTGGA GTTGGGTCCG CCAGCCCCCA GGGAAGGGGC
TGGAGTGGAT TGGGGAAATC TATCATAGTG GGAGCACCAA CTACAACCCG TCCCTCAAGA GTCGAGTCAC
CATATCAGTA GACAAGTCCA AGAACCAGTT CTCCCTGAAG CTGAGCTCTG TGACCGCCGC GGACACGGCC
GTGTATTACT GTGCGAGTAG TGGTTATGAT GCTTTTGATA TCTGGGGCCA AGGGACCACG GTCACCGTCT
CAAGC

H26 (SEQ ID NO:155)

CAGGT GCAGCTGCAG GAGTCGGGCC CAGGACTGGT GAAGCCTTCG GGGACCCTGT CCCTCACCTG
CGCTGTCTCT GGTGGCTCCA TCAGCAGTAG TAATTGGTGG AGTTGGGTCC GCCAGCCCCC AGGGAAGGGG
CTGGAGTGGA TTGGGGAAAT CTATCATAGT GGGAGCACCA ACTACAACCC GTCCCTCAAG AGTCGAGTCA
CCATATCAGT AGACAAGTCC AAGAACCAGT TCTCCCTGAA GCTGAGCTCT GTGACCGCCG CGGACACGGC
CGTGTATTAC TGTGCACGAT ACAGCTATGG AACGGTAGGA ATTGACTACT GGGGCCAGGG AACCCTGGTC
ACCGTCTCAA GC

H27 (SEQ ID NO:157)

GAGGT GCAGCTGGTG CAGTCTGGGG GAGGCGTGGT CCAGCCTGGG ACGTCCCTGA GACTCTCCTG
TGCAGCCTCT GGATTCAGCT TCAGAAGTCA TGGCATGCAC TGGGTCCGCC AGGCTCCAGG CAAGGGGCTG
GAGTGGGTGG CAGTTATATC ATATGATGGA AGTAATAAAT ACTATGCAGA CTCCGTGAAG GGCCGATTCA
CCATCTCCAG AGACAATTCC AAGAACACGC TGTATCTGCA AATGAACAGC CTGAGAGCTG AGGACACGGC
TGTGTATTAC TGTGCGACTA TAGGGCCGGG GGGATTTGAC TACTGGGGCC AGGGCACCCT GGTCACCGTC
TCAAGC

H28 (SEQ ID NO:159)

CAG GTGCAGCTGC AGGAGTCCGG CCCAGGACTG GTGAAGCCTT CGGAGACCCT GTCCCTCACC
TGCACTGTCT CTGGTGGCTC CATTAGAAAT TACTACTGGA GTTGGATCCG GCAGCCCCCA GGGAAGGGAC
TGGAGTGGAT TGGGTATATT TCTGACAGTG GGAATACCAA CTACAATCCC TCCCTCAAGA GTCGAGTCAC
CATATCAGTA GACACGTCCA AGAACCAGTT CTCCCTAAAG CTGACCTCTG TGACCGCCAC AGACACGGCT
GCGTATTTCT GTGCGAGACA TCGAAGCAGC TGGGCATGGT ACTTCGATCT CTGGGGCCGT GGCACCCTGG
TCACCGTCTC AAGC

H29 (SEQ ID NO:161)

C AGGTGCAGCT GCAGGAGTCG GGCCCAGGAC TGGTGAAGCC TTCGGAGACC CTGTCCCTCA
CCTGCGCTGT CTCTGGTGGC TCCATCAGCA GTAGTAACTG GTGGAGTTGG GTCCGCCAGC CCCCAGGGAA
GGGGCTGGAG TGGATTGGGG AAATCTATCA TAGTGGGAGC ACCAACTACA ACCCGTCCCT CAAGAGTCGA
GTCACCATAT CAGTAGACAA GTCCAAGAAC CAGTTCTCCC TGAAGCTGAG CTCTGTGACC GCCGCGGACA
CGGCCGTGTA TTACTGTGCG AGAGTGGGCA GTGGCTGGTA CGTTGACTAC TGGGGCCAGG GAACCCTGGT
CACCGTCTCA AGC

H30 (SEQ ID NO:163)

CAGGTG CAGCTGCAGG AGTCCGGCCC AGGACTGGTG AAGCCTTCGG GGACCCTGTC CCTCACCTGC
GCTGTCTCTG GTGGCTCCAT CAGCAGTAGT AACTGGTGGA GTTGGGTCCG CCAGCCCCCA GGGAAGGGGC
TGGAGTGGAT TGGGGAAATC TATCATAGTG GGAGCACCAA CTACAACCCG TCCCTCAAGA GTCGAGTCAC
CATATCAGTA GACAAGTCCA AGAACCAGTT CTCCCTGAAG CTGAGCTCTG TGACCGCCGC GGACACGGCC
GTGTATTACT GTGCGAGAGT TTCTGGCTAC TACTACTACG GTATGGACGT CTGGGGCCAA GGGACCACGG
TCACCGTCTC AAGC

H31 (SEQ ID NO:165)

GAGGTCCA GCTGGTACAG TCTGGGGGAG GCGTGGTCCA GCCTGGGAGG TCCCTGAGAC TCTCCTGTGC
AGCCTCTGGA TTCACCTTCA GTAGCTATGG CATGCACTGG GTCCGCCAGG CTCCAGGCAA GGGGCTGGAG
TGGGTGGCAG TTATATCATA TGATGGAAGT AATAAATACT ATGCAGACTC CGTGAAGGGC CGATTCACCA
TCTCCAGAGA CAATTCCAAG AACACGCTGT ATCTGCAAAT GAACAGCCTG AGAGCTGAGG ACACGGCTGT
GTATTACTGT GCGAAAGCGT ATAGCAGTGG CTGGTACGAC TACTACGGTA TGGACGTCTG GGGCCAAGGG
ACCACGGTCA CCGTCTCAAG C

H32 (SEQ ID NO:167)

CAGGTGCAGC TGCAGGAGTC GGGCCCAGGA CTGGTGAAGC CTTCGGGGAC CCTGTCCCTC ACCTGCGCTG
TCTCTGGTGG CTCCATCAGC AGTAGTAACT GGTGGAGTTG GGTCCGCCAG CCCCCAGGGA AGGGGCTGGA
GTGGATTGGG GAAATCTATC ATAGTGGGAG CACCAACTAC AACCCGTCCC TCAAGAGTCG AGTCACCATA
TCAGTAGACA AGTCCAAGAA CCAGTTCTCC CTGAAGCTGA GCTCTGTGAC CGCCGCGGAC ACGGCCGTGT
ATTACTGTGC GAGAGCCAGC GTTGATGCTT TTGATATCTG GGGCCAAGGG ACAATGGTCA CCGTCTCAAG
C

H33 (SEQ ID NO:169)

CAGGTG CAGCTGCAGG AGTCCGGCCC AGGACTGGTG AAGCCTTCGG GGACCCTGTC CCTCACCTGC
GCTGTCTCTG GTGGCTCCAT CAGCAGTAGT AACTGGTGGA GTTGGGTCCG CCAGCCCCCA GGGAAGGGGC
TGGAGTGGAT TGGGGAAATC TATCATAGTG GGAGCACCAA CTACAACCCG TCCCTCAAGA GTCGAGTCAC
CATATCAGTA GACAAGTCCA AGAACCAGTT CTCCCTGAAG CTGAGCTCTG TGACCGCTGC GGACACGGCC
GTGTACTACT GTGCGAGAGG GCTGGGGGGAT AGTAGTGGTT ATATCCTTTG GGGCCAAGGG ACAATGGTCA
CCGTCTCAAG C

H34 (SEQ ID NO:171)

CAGGTA CAGCTGCAGC AGTCAGGCCC AGGACTGGTG AAGCCTTCGG GGACCCTGTC CCTCACCTGC
GCTGTCTCTG GTGGCTCCAT CAGCAGTAGT AACTGGTGGA GTTGGGTCCG CCAGCCCCCA GGGAAGGGGC
TGGAGTGGAT TGGGGAAATC TATCATAGTG GGAGCACCAA CTACAACCCG TCCCTCAAGA GTCGAGTCAC
CATATCAGTA GACAAGTCCA AGAACCAGTT CTCCCTGAAG CTGAGCTCTG TGACTCCCGA GGACACGGCT
GTGTATTACT GTGCAAGAGA TCACGGCCCC TTTGACTACT GGGGCCGGGG AACCCTGGTC ACCGTCTCAA
GC

H35 (SEQ ID NO:173)

CAGGT GCAGCTGGTG CAATCTGGGG GAGGCGTGGT CCAGCCTGGG AGGTCCCTGA GACTCTCCTG
TGCAGCCTCT GGATTCGCCT TCAGTAGCTA TGGCATGCAC TGGGTCCGCC AGGCTCCAGG GAAGGGGCTG
GAGTGGGTTT CATACATTAG TAGTAGTAGT AGTACCATAT ACTACGCAGA CTCTGTGAAG GGCCGATTCA
CCATCTCCAG AGACAATTCC AAGAACACGC TGTATCTGCA AATGAACAGC CTGAGAGCCG AGGACACGGC
TGTGTATTAC TGTGCGAGAG ATCGATTTGG GTCGGGGCAC TTGCCCGACT ACTGGGGCCA GGGAACCCTG
GTCACCGTCT CAAGC

192

H36 (SEQ ID NO:175)

CAGGT GCAGCTACAG CAGTGGGGCG CAGGACTGTT GAAGCCTTCG GAGACCCTGT CCCTCACCTG
CGCTGTCTAT GGTGGGTCCT TCAGTGGTTA CTACTGGAGC TGGATCCGCC AGCCCCCAGG GAAGGGGCTG
GAGTGGATTG GGGAAATCAA TCATAGTGGA AGCACCAACT ACAACCCGTC CCTCAAGAGT CGAGTCACCA
TATCAGTAGA CACGTCCAAG AACCAGTTCT CCCTGAAGCT GAGCTCTGTG ACCGCCGCGG ACACGGCTGT
GTATTACTGT GCGAGAGTTG GGTATAGCAG TGGCCGTGAC GTTGACTACT GGGGCCAGGG CACCCTGGTC
ACCGTCTCAA GC

H37 (SEQ ID NO:177)

GAGGTCC AGCTGGTGGA GTCTGGCCCA GGACTGGTGA AGCCTTCGGG GACCCTGTCC CTCACCTGCG
CTGTCTCTGG TGGCTCCATC AGCAGTAGTA ACTGGTGGAG TTGGATCCGG CAGCCCCCAG GGAAGGGGCT
GGAGTGGATT GGGGAAATCT ATCATAGTGG GAGCACCAAC TACAACCCGT CCCTCAAGAG TCGAGTCACC
ATATCAGTAG ACAAGTCCAA GAACCAGTTC TCCCTGAAGC TGAGCTCTGT GACCGCCGCG GACACGGCCG
TGTATTACTG TGCGAGAGAT AGCAGCAGCT GGTACTACGG TATGGACGTC TGGGGCCAAG GGACCACGGT
CACCGTCTCA AGC

H38 (SEQ ID NO:179)

GAGGT CCAGCTGGTG GAGTCCGGCC CAGGACTGGT GAAGCCTTCG GAGACCCTGT CCCTCACCTG
CGCTGTCTCT GGTGGCTCCA TCAGCAGTAG TAACTGGTGG AGTTGGGTCC GCCAGCCCCC AGGGAAGGGG
CTGGAGTGGA TTGGGGAAAT CTATCATAGT GGGAGCACCA ACTACAACCC GTCCCTCAAG AGTCGAGTCA
CCATATCAGT AGACAAGTCC AAGAACCAGT TCTCCCTGAA GCTGAGCTCT GTGACCGCTG CGGACACGGC
CGTATATTAT TGTGCGAGAT CGACGTGGTC CCTTGACTAC TGGGGCCAGG GCACCCTGGT CACCGTCTCA
AGC

H39 (SEQ ID NO:181)

GAGGTCCAG CTGGTGGAGT CTGGCCCAGG ACTGGTGAAG CCTTCGGGGA CCCTGTCCCT CACCTGCGCT
GTCTCTGGTG GCTCCATCAG CAGTAGTAAC TGGTGGAGTT GGGTCCGCCA GCCCCCAGGG AAGGGGCTGG
AGTGGATTGG GGAAATCTAT CATAGTGGGA GCACCAACTA CAACCCGTCC CTCAAGAGTC GAGTCACCAT
ATCAGTAGAC AAGTCCAAGA ACCAGTTCTC CCTGAAGCTG AGCTCTGTGA CCGCTGCGGA CACGGCCGTA
TATTACTGTG CGAGACTCTC GTTTGCCGAT CCTTTTGATA TCTGGGGCCA AGGGACAATG GTCACCGTCT
CAAGC

H40 (SEQ ID NO:183)

CAGGTCCAGC TGGTGCAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAAGC CTGGGTCCTC GGTGAAGGTC TCCTGCAAGG
CTTCTGGAGG CACCTTCAGC AGCTATGCTA TCAGCTGGGT GCGACAGGCC CCTGGACAAG GGCTTGAGTG
GATGGGAAGG ATCATCCCCA TCCTTGGTAT AGCAAACTAC GCACAGAAGT TCCAGGGCAG AGTCACGATT
ACCGCGGACA AATCCACGAG CACAGCCTAC ATGGAGCTGA GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGCCGTGT
ATTACTGTGC ATATGGTTCG GGGAGTTATT ACGACTACTA CTACATGGAC GTCTGGGGCA AAGGGACCAC
GGTCACCGTC TCAAGC

H41 (SEQ ID NO:185)

GAGGTCC AGCTGGTGCA GTCTGGGGGA GGCTTGGTCC AGCCTGGGGG GTCCCTGAGA CTCTCCTGTT
CAGCCTCCGG ATTCACCTTC AGTAGCTATG CTATGCACTG GGTCCGCCAG GCTCCAGGGA AGGGACTGGA
ATATGTTTCA ACTATTAGTA GTAATGGGGA TAGCACATAC TACGCAGACT CCGTGAAGGG CAGATTCACC
ATCTCCAGAG ACAATTCCAA GAACACGCTG TATCTGCAAA TGAACAGCCT GAGAGCTGAG GACACGGCTG
TGTATTACTG TGCGAAAGAA GAAGTATGGC TACAGGCTTT TGATATCTGG GGCCAAGGGA CAATGGTCAC
CGTCTCAAGC

H42 (SEQ ID NO:187)

CA GCTGCAGCTG CAGGAGTCGG GCCCAGGACT GGTGAAGCCT TCGGAGACCC TGTCCCTCAC
CTGCACTGTC TCTGGTGGCT CCATCAGTAG TAACTGGTGG AGTTGGGTCC GCCAGCCCCC AGGGAAGGGG
CTGGAGTGGA TTGGGGAAAT CTATCATAGT GGGAGCACCA ACTACAACCC CTCCCTCAAG AGTCGAGTCA
CCATCTCAGT AGACACGTCC AAGAACCAGT TCTCCCTGAA GCTGAGCTCT GTGACCGCTG CGGACACGGC
CGTGTATTAC TGTGCGAGAG ATAAGGGATA CATGGACGTC TGGGGCAAAG GGACCACGGT CACCGTCTCA
AGC

H43 (SEQ ID NO:189)

CAGGTACA GCTGCAGCAG TCAGGGGCTG AGGTGAAGAA GCCTGGGTCC TCGGTGAAGG TCTCCTGCAA
GGCTTCTGGA GGCACCTTCA GCAGCTATGC TATCAGCTGG GTGCGACAGG CCCCTGGACA AGGGCTTGAG
TGGATGGGAA GGATCATCCC TATCCTTGGT ATAGCAAACT ACGCACAGAA GTTCCAGGGC AGAGTCACGA
TTACCGCGGA CAAATCCACG AGCACAGCCT ACATGGAGCT GAGCAGCCTG AGATCTGAGG ACACGGCCGT
GTATTACTGT GCGAGAGATC ATAGGTTCGA CTACGCCTGG TACTTCGATC TCTGGGGCCG TGGCACCCTG
GTCACCGTCT CAAGC

H44 (SEQ ID NO:191)

CA GGTGCAGCTG CAGGAGTCGG GCCCAGGACT GCTGAAGCCT TCGGGGACCC TGTCCCTCAC
CTGCGCTGTC TCTGGTGGCT CCATCAGCAG TAGCAACTGG TGGAGTTGGG TCCGCCAGCC CCCAGGGGAG
GGGCTGGAGT GGATTGGGGA AATCTATCAT AGTGGGAGCA CCAACTACAA CCCGTCCCTC AAGAGTCGAG
TCACCATATC AGTAGACAAG TCCAAGAACC AGTTCTCCCT GAAGCTGAGC TCTGTGACCG CCGCGGACAC
GGCCGTCTAT TACTGTGCGA GAGATCTAAC GGGGAGTCTT GACTACTGGG GCCAGGGAAC CCTGGTCACC
GTCTCAAGC

H45 (SEQ ID NO:193)

CAGGTGCAGC TGCAGGAGTC CGGCCCAGGA CTGGTGAAGC CTTCGGGGAC CCTGTCCCTC ACCTGCGCTG
TCTCTGGTGG CTCCATCAGC AGTAGTAACT GGTGGAGTTG GGTCCGCCAG CCCCCAGGGA AGGGGCTGGA
GTGGATTGGG GAAATCTATC ATAGTGGGAG CACCAACTAC AACCCGTCCC TCAAGAGTCG AGTCACCATA
TCAGTAGACA AGTCCAAGAA CCAGTTCTCC CTGAAGCTGA GCTCTGTGAC CGCCGCGGAC ACGGCCGTGT
ATTACTGTGC GAGAATACGC TATGATGCTT TTGATATCTG GGGCCAAGGG ACAATGGTCA CCGTCTCAAG
C

H46 (SEQ ID NO:195)

CA GGTGCAGCTG CAGGAGTCGG GCCCAGGACT GGTGAAGCCT TCGGAGACCC TGTCCCTCAC
CTGCGCTGTC TCTGGTGGCT CCATCAGCAG TAGTAACTGG TGGAGTTGGG TCCGCCAGCC CCCAGGGAAG
GGGCTGGAGT GGATTGGGGA AATCTATCAT AGTGGGAGCA CCAACTACAA CCCGTCCCTC AAGAGTCGAG
TCACCATATC AGTAGACAAG TCCAAGAACC AGTTCTCCCT GAAGCTGAGC TCTGTGACCG CTGCGGACAC
GGCCGTGTAT TACTGTGCCG TGACGGCAGC CCATGATGCT TTTGATATCT GGGGCCAAGG GACAATGGTC
ACCGTCTCAA GC

H47 (SEQ ID NO:197)

CA GGTGCAGCTA CAGCAGTGGG GCCCAGGACT GGTGAAGCCT TCGGGGACCC TGTCCCTCAC
CTGCGCTGTC TCTGGTGGCT CCATCAGCAG TAGTAACTGG TGGAGTTGGG TCCGCCAGCC CCCAGGGAAG
GGGCTGGAGT GGATTGGGGA AATCTATCAT AGTGGGAGCA CCAACTACAA CCCGTCCCTC AAGAGTCGAG
TCACCATATC AGTAGACAAG TCCAAGAACC AGTTCTCCCT GAAGCTGAGC TCTGTGACCG CCGCGGACAC
GGCCGTGTAT TACTGTGCGA GAGACAGCAG TGGCCAAGGG TACTTTGACT ACTGGGGCCA GGGCACCCTG
GTCACCGTCT CAAGC

H48 (SEQ ID NO:199)

GAGGTG CAGCTGGTGC AGTCTGGGGC TGAGGTGAAG AAGCCTGGGG CCTCAGTGAA GGTCTCCTGC
AAGGCTTCTG GATACACCTT CACTAGCTAT GCTATGCATT GGGTGCGCCA GGCCCCCGGA CAAAGGCTTG
AGTGGATGGG ATGGATCAAC GCTGGCAATG GTAACACAAA ATATTCACAG AAGTTCCAGG GCAGAGTCAC
CATGACCAGG GACACGTCCA CGAGCACAGT CTACATGGAG CTGAGCAGCC TGAGATCTGA GGACACGGCC
GTGTATTACT GTGCTAGACA CTCGTACTAC TACGGTATGG ACGTCTGGGG CCAAGGCACC CTGGTCACCG
TCTCAAGC

H49 (SEQ ID NO:201)

CAG GTGCAGCTAC AGCAGTGGGG CGCAGGACTG TTGAAGCCTT CGGAGACCCT GTCCCTCACC
TGCGCTGTCT ATGGTGGGTC CTTCAGTGGT TACTACTGGA GCTGGATCCG CCAGCCCCCA GGGAAGGGGC
TGGAGTGGAT TGGGGAAATC AATCATAGTG GAAGCACCAA CTACAACCCG TCCCTCAAGA GTCGAGTCAC
CATATCGGTA GACACGTCCA AGAACCAGTT CTCCCTGAAG CTGAGCTCTG TGACCGCCGC GGACACGGCT
GTGTATTACT GTGCGAGAGT CGGGTATAGC CACGGCGAAG AAGTCCTGGA CGTCTGGGGC AAAGGGACCA
CGGTCACCGT CTCAAGC

H50 (SEQ ID NO:203)

CAGGT GCAGCTGCAG GAGTCGGGCC CAGGACTGGT GAAGCCTTCG GAGACCCTGT CCCTCACCTG
CACTGTCTCT GGTGGCTCCA TCGGCAATTA TGACTGGAGT TGGATCCGGC AGCCCCCAGG GAAGGGACTG
GAGTGGATTG GGACTATCTA CTCTAGTGGG AGTACGTACT ACAGTCCGTC CCTCAAGAGT CGACTCACCA
TATCAGTAGA CAAGTCCAAG AACCGGTTCT CCCTGAAGCT GAGCTCTGTG ACCGCCGCGG ACACGGCCGT
GTATTACTGT GCGAGAGCAC GAGGGTATAG CAGCCCCTTC GACCCCTGGG GCCAGGGCAC CCTGGTCACC
GTCTCAAGC

H51 (SEQ ID NO:205)

CA GGTCCAGCTG GTACAGTCTG GGGCTGAGGT GAAGAAGCCT GGGTCCTCGG TGAAGGTCTC
CTGCAAGGCT TCTGGAGGCA CCTTCAGCAG CTATGCTATC AGCTGGGTGC GACAGGCCCC TGGACAAGGG
CTTGAGTGGA TGGGAATAAT CAACCCTAGT GGTGGTAGCA CAAGCTACGC ACAGAAGTTC CAGGGCAGAG
TCACCATTAC CAGGGACACA TCCGCGAGCA CAGCCTACAT GGAGCTGAGC AGCCTGAGAT CTGAAGACAC
GGCTGTGTAT TACTGTGCGA GAGATCGGTG GAGGTACGAT GCTTTTGATA TCTGGGGCCA AGGGACAATG
GTCACCGTCT CAAGC

H52 (SEQ ID NO:207)

G AGGTGCAGCT GGTGGAGTCT GGCCCAGGAC TGGTGAAGCC TTCGGGGACC CTGTCCCTCA
CCTGCGCTGT CTCTGGTGGC TCCATCAGCA GTAGTAACTG GTGGAGTTGG GTCCGCCAGC CCCCAGGGAA
GGGGCTGGAG TGGATTGGGG AAATCTATCA TAGTGGGAGC ACCAACTACA ACCCGTCCCT CAAGAGTCGA
GTCACCATAT CAGTAGACAA GTCCAAGAAC CAGTTCTCCC TGAAGCTGAG CTCTGTGACC GCCGCGGACA
CGGCCGTGTA TTACTGTGCG AGAGAAAAAT CGGGTATGGA CGTCTGGGGC CAAGGGACCA CGGTCACCGT
CTCAAGC

Fig 2

LIGHT CHAIN VARIABLE REGION SEQUENCES

	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4	SEQ ID NO
L1	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSSGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPIT	FGQGTRLEIK	2
L1	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPIT	FGQGTRLEIK	4
L2	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPLT	FGGGTKVEIK	6
L3	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPHT	FGGGTKVEIK	8
L4	EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPLT	FGPGTKVDIK	10
L5	EIVLTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPLT	FGGGTKVEIK	12
L6	DVVMTQSPLSLAVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPLT	FGGGTKVEIK	14
L7	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPLT	FGGGTKVEIK	16
L8	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPLT	FGGGTKVEIK	18
L9	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPFT	FGQGTRLEIK	20
L10	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPLA	FGQGTKVEIK	22
L11	EIVLTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLN	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSASGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPIT	FGQGTRLEIK	24
L12	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISC	TRSSGSIASNYVQ	WYQQRPGSSPTTVIY	EDNQRPS	GVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTEDEADYYC	QSYDSSNQRV	FGGGTKLTVL	26
L13	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPLT	FGGGTKVEIK	28
L14	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPIT	FGQGTRLEIK	30
L15	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSYRAS	GVPDRFSASGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPIT	FGQGTRLEIK	32
L16	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQGTHWPLT	FGQGTKVEIK	34
L17	EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPLT	FGGGTKVEIK	36
L18	DIQLTQSPSSVSASVGDRVTITC	RASQGISRWLA	WYQQKPGKAPRLLIY	AASGLQS	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISNLQPEDFATYYCQQASS	FPITFGQGT	RLETK	38
L19	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPYT	FGQGTKLEIK	40
L20	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPNRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPFT	FGPGTKVDIK	42
L21	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSHGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSYRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQSLEVPFT	FGQGTKLEIK	44
L22	SSELTQDPAVSVALGQTVRITC	QGDSLRIYYTG	WYQQKPGQAPVLVLF	GKNNRPS	GIPDRFSGSHSGNTASLTITGAQAEDEADYYC	NSRDITGVHR	FGGGTKLTVL	46
L23	EIVLTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPLT	FGGGTKVEIK	48
L24	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPNT	FGGGTKVEIK	50
L25	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPIT	FGPGTKVDIK	52
L26	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYTYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEPEDVGVYYC	MQALEMPLT	FGGGTKVEIK	54
L27	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC	RASQGISSYLA	WYQQKPGKAPKLLIY	AASTLQS	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC	QQLNSYPLT	FGGGTKVEIK	56
L28	SYVLTQPPSVSVSPGQTASITC	SGDKLGDKYVG	WYQQKAGQAPVLVIY	QDNKRPS	GIPERFSGSNSGNTASLTISGTQAMDEADYYC	QAWDSGTVF	GGGTKLTVL	58
L29	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ	ALQTPLT	FGGGTKVEIK	60
L30	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MEALQTPFT	FGPGTKVEIK	62
L31	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC	RSSQGIGYFLN	WYQQEPGKAPKILIS	AASTLQS	GVPSRFSGSGSGTDFTLSINNLQPADFATYYC	QQSHSPPYT	FGQGTKVEIK	64
L32	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPLT	FGGGTKVEIK	66
L33	EIVLTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLMY	LVSNRAS	GVPERFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQTLQTPLS	FGQGTKLEIK	68
L34	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY	LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPLT	FGGGTKVEIK	70
L35	NFMLTQPHSVSASPGKTVTISC	TRSSGDIDNNYVQ	WYQQRPGNSPTNVIY	EDNRRPS	GVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLQPEDEADYYC	QSYQSDNWV	FGGGTKVTVL	72

L36	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISC***TRSSGSIASNYVQ***WYQQRPGSSPTTVIY***EDNQRPS***GVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTEDEADYYC***QSYDSSNVV***FGGGTKLTVL	72
L37	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC***RSSQSLLHSNGYNYLD***WYLQKPGQSPQLLIY***LGSNRDS***GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC***MQGTHWPYT***FGQGTRLEIK	74
L38	DVVMTQSPLSLPVTPGESASISC***RSSQSLLHSNGYNFLD***WYLQKPGQSPQLLIY***LGSNRAS***GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC***MQALQTPLT***FGGGTKVEIK	76
L39	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC***RSSQSLLHSNGYNYLD***WYLQKPGQSPQLLIY***LGSNRAS***GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC***MQALQTPLT***FGGGTKVEIK	78
L40	ETTLTQSPATLSLSPGQRATLSC***RASQSVYNYLA***WYQQKPGQAPRLLIY***DASRRAT***GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC***QQRNNWPLT***FGGGTKVEIK	80
L41	DIQLTQSPSSLSASVGDSVTISC***RASQSPGIFLN***WYQQIPGKAPKLLIY***ATSTLES***GVPPRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC***QQSNSVPLT***FGGGTKVEIK	82
L42	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC***RSSQSLLHSNGYNYLD***WYLQKPGQSPQLLIY***LGSNRAS***GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC***MQALQTPLT***FGQGTRLEIK	84
L43	EIVMTQSPATLSVSPGERATFSC***RASQSVGSNLA***WYQQKPGQAPRLLIY***DASNRAT***GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC***QQRSNWPLT***FGGGTKVEIK	86
L44	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC***RSSQSLLHSNGYNYLD***WYLQKPGQSPQLLIY***LGSNRAS***GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC***MQALQTPLT***FGGGTKVEIK	88
L45	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC***RSSQSLLHSNGYNYLD***WYLQKPGQSPQLLIY***LGSTRAS***GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC***MQALQTPYT***FGGGTKVEIK	90
L46	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC***RSSQSLLHSNGYNYLD***WYLQKPGQSPQLLIY***LGSNRAS***GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC***MQALQTPLT***FGGGTKVEIK	92
L47	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC***RSSQSLLHTNGYNYLD***WYLQKPGQSPRLLIY***LGFNRAS***GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC***MQGLQTPLT***FGGGTKVEIK	94
L48	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC***RSSQSLLHSNGYNYLD***WYLQKPGQSPQLLIY***LGSNRAS***GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC***MQATHWPYT***FGQGTKLEIK	96
L49	NFMLTQPHSVSESPGKTVSISC***TRNSGSIASNFVQWYQ***QRPGSAPTIVIY***EDNQRPS***AVPTRFSGSIDRSSNSASLTISGLTTEDEADYYC***QSYDSANVI***FGGGTKLTVL	98
L50	ETTLTQSPGTLSLSPGERATLSC***RASQTISSSHLA***WYQQKPGQSPRLLIY***GAGYRAT***GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC***QHYGSSLRT***FGQGTKVEIK	100
L51	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISC***TGSGGNIASNYVQ***WYQQRPGRAPTTVIY***EDNRRPS***GVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTEDEADYYC***QSYDPYNRV***FGGGTKLTVL	102
L52	EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC***RSSQSLLHTNGYDYLD***WYLQKPGQSPQLLIY***LGSTRAS***GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC***MQAFQTPLT***FGGGTKMEIK	104

15/234

Fig 3

HEAVY CHAIN VARIABLE REGION SEQUENCES

	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4	SEQ ID NO:
H1	EVQLVETGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	FNYYDSSV	WGQGTLVTVSS	106
H2	EVQLVETGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	GVEQIDY	WGQGTLVTVSS	108
H3	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAK	NLAAGAVAY	WGQGTLVTVSS	110
H4	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVSGGSFS	GYYWS	WIRQPPGKGLEWIG	EINHSGSTNYNRSLKS	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	LSYGSGVDY	WGQGTLVTVSS	112
H5	QLQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	YSSSRNDAFDI	WGQGTMVTVSS	114
H6	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	DGQLDAFDI	WGQGTMVTVSS	116
H7	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	FWDYYGMDV	WGQGTTVTVSS	118
H8	QVQLQQWGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLES	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	DRYYGMDV	WGQGTTVTVSS	120
H9	EVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	YIYYSGSTYYNPSLKS	RVTMSVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	WSYLDAFDI	WGQGTMVTVSS	122
H10	EVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	DYDIFGMDV	WGQGTTVTVSS	124
H11	QLQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQSSLKLSSVTAADTAVYYCAR	ANRDDAFDI	WGQGTMVTVSS	126
H12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	SYAMS	WVRQAPGKGLEWVS	AISGSGGSTYYADSVKG	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLSADDTAVYFCAS	GGWYGDYFDY	WGQGTLVTVSS	128
H13	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	EGNRTVTSAFDI	WGQGTMVTVSS	130
H14	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	GLGDSSGYIL	WGQGTMVTVSS	132
H15	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	GLGDSSGYIL	WGQGTMVTVSS	134
H16	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	WTGRTDAFDI	WGQGTMVTVSS	136
H17	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	QGALDAFDI	WGQGTTVTVSS	138
H18	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFS	SYAMS	WVRQAPGKGLEWVS	TISGSGGSTYYADSVKG	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	ERGSGWSLDNMDV	WGQGTTVTVSS	140
H19	QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	DSSGFYGMDV	WGQGTTVTVSS	142
H20	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	SSSWYWNAFDI	WGQGTMVTVSS	144
H21	QVQLQQWGPALVKPSGTLSLTCSVSGVSIT	SNIWWS	WVRQSPGKGLEWIG	EVYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAG	YRSFGESY	WGQGTLVTVSS	146
H22	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVVYGGSFS	DFYWS	WIRQPPGKGPEWIG	EVNPRGSTNYNPSLKS	RATISLDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFCAR	GPRPGRDGYNYFDN	WGQGTLVTVSS	148
H23	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	GIAAAGQGDY	WGQGTLVTVSS	150
H24	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIS	SSSYYWG	WIRQPPGKGLEWIG	SIYYSGSTYYNPSLKS	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	DGGYYYYGMDV	WGQGTTVTVSS	152
H25	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAS	SGYDAFDI	WGQGTTVTVSS	154
H26	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	YSYGTVGIDY	WGQGTLVTVSS	156
H27	EVQLVQSGGGVVQPGTSLRLSCAASGFSFR	SHGMH	WVRQAPGKGLEWVA	VISYDGSNKYYADSVKG	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAT	IGPGGFDY	WGQGTLVTVSS	158
H28	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIR	NYYWS	WIRQPPGKGLEWIG	YISDSGNTNYNPSLKS	RVTISVDTSKNQFSLKLTSVTATDTAAYFCAR	HRSSWAWYFDL	WGRGTLVTVSS	160
H29	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	VGSGWYVDY	WGQGTLVTVSS	162
H30	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	VSGYYYYGMDV	WGQGTTVTVSS	164
H31	EVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	SYGMH	WVRQAPGKGLEWVA	VISYDGSNKYYADSVKG	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	AYSSGWYDYYGMDV	WGQGTTVTVSS	166
H32	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	ASVDAFDI	WGQGTMVTVSS	168
H33	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	GLGDSSGYIL	WGQGTMVTVSS	170
H34	QVQLQQSGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS	SSNWWS	WVRQPPGKGLEWIG	EIYHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTPEDTAVYYCAR	DHGPFDY	WGRGTLVTVSS	172

H35 QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFAFS*SYGMH*WVRQAPGKGLEWVS*YISSSSSTIYYADSVKG*RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR*DRFGSGHLPDY*WGQGTLVTVSS 174
H36 QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFS*GYYWS*WIRQPPGKGLEWIG*EINHSGSTNYNPSLKS*RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR*VGYSSGRDVDY*WGQGTLVTVSS 176
H37 EVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS*SSNWWS*WIRQPPGKGLEWIG*EIYHSGSTNYNPSLKS*RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR*DSSSWYYGMDV*WGQGTTVTVSS 178
H38 EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCAVSGGSIS*SSNWWS*WVRQPPGKGLEWIG*EIYHSGSTNYNPSLKS*RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR*STWSLDY*WGQGTLVTVSS 180
H39 EVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS*SSNWWS*WVRQPPGKGLEWIG*EIYHSGSTNYNPSLKS*RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR*LSFADPFDI*WGQGTMVTVSS 182
H40 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFS*SYAIS*WVRQAPGQGLEWMG*RIIPILGIANYAQKFQG*RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAY*GSGSYYDYYYMDV*WGKGTTVTVSS 184
H41 EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCSASGFTFS*SYAMH*WVRQAPGKGLEYVS*TISSNGDSTYYADSVKG*RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK*EEVWLQAFDI*WGQGTMVTVSS 186
H42 QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIS*SNWWS*WVRQPPGKGLEWIG*EIYHSGSTNYNPSLKS*RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR*DKGYMDV*WGKGTTVTVSS 188
H43 QVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFS*SYAIS*WVRQAPGQGLEWMG*RIIPILGIANYAQKFQG*RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR*DHRFDYAWYFDL*WGRGTLVTVSS 190
H44 QVQLQESGPGLLKPSGTLSLTCAVSGGSIS*SSNWWS*WVRQPPGEGLEWIG*EIYHSGSTNYNPSLKS*RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR*DLTGSLDY*WGQGTLVTVSS 192
H45 QVQLQESGPGLVKPSGTSLTCAVSGGSISS*SNWWS*WVRQPPGKGLEWIG*EIYHSGSTNYNPSLKS*RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR*IRYDAFDI*WGQGTMVTVSS 194
H46 QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGGSIS*SSNWWS*WVRQPPGKGLEWIG*EIYHSGSTNYNPSLKS*RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAV*TAAHDAFDI*WGQGTMVTVSS 196
H47 QVQLQQWGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS*SSNWWS*WVRQPPGKGLEWIG*EIYHSGSTNYNPSLKS*RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR*DSSGQGYFDY*WGQGTLVTVSS 198
H48 EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT*SYAMH*WVRQAPGQRLEWMG*WINAGNGNTKYSQKFQG*RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR*HSYYYGMDV*WGQGTLVTVSS 200
H49 QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFS*GYYWS*WIRQPPGKGLEWIG*EINHSGSTNYNPSLKS*RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR*VGYSHGEEVLDV*WGKGTTVTVSS 202
H50 QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIG*NYDWS*WIRQPPGKGLEWIG*TIYSSGSTYYSPSLKS*RLTISVDKSKNRFSLKLSSVTAADTAVYYCAR*ARGYSSPFDP*WGQGTLVTVSS 204
H51 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFS*SYAIS*WVRQAPGQGLEWMG*IINPSGGSTSYAQKFQG*RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR*DRWRYDAFDI*WGQGTMVTVSS 206
H52 VQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIS*SSNWWS*WVRQPPGKGLEWIG*EIYHSGSTNYNPSLKS*RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR*EKSGMDV*WGQGTTVTVSS 208

Fig 4

Light Chain	CDR1 Sequence															
L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L10, L13, L14, L15, L16, L17, L19, L20, L23, L24, L25, L29, L30, L32, L33, L34, L37, L39, L42, L44, L45, L46, L48	R	S	S	Q	S	L	L	H	S	N	G	Y	N	Y	L	D
L1	R	S	S	Q	S	L	L	H	S	S	G	Y	N	Y	L	D
L11	R	S	S	Q	S	L	L	H	S	N	G	Y	N	Y	L	N
L21	R	S	S	Q	S	L	L	H	S	H	G	Y	N	Y	L	D
L26	R	S	S	Q	S	L	L	H	S	N	G	Y	T	Y	L	D
L38	R	S	S	Q	S	L	L	H	S	N	G	Y	N	F	L	D
L47	R	S	S	Q	S	L	L	H	T	N	G	Y	N	Y	L	D
L52	R	S	S	Q	S	L	L	H	T	N	G	Y	D	Y	L	D
CONSENSUS	R	S	S	Q	S	L	L	H	S	N	G	Y	N	Y	L	D
L51	T	G	S	G	G	N	I	A	S	N	Y	V	Q			
L12, L36	T	R	S	S	G	S	I	A	S	N	Y	V	Q			
L35	T	R	S	S	G	D	I	D	N	N	Y	V	Q			
L49	T	R	N	S	G	S	I	A	S	N	F	V	Q	W	Y	Q
L50		R	A	S	Q	T	I	S	S	S^ H	L	A				
L18		R	A	S	Q	G	I	S	R	W	L	A				
L27		R	A	S	Q	G	I	S	S	Y	L	A				
L40		R	A	S	Q	S	V	Y	N	Y	L	A				
L43		R	A	S	Q	S	V	G	S	N	L	A				
L31		R	S	S	Q	G	I	G	Y	F	L	N				
L41		R	A	S	Q	S	P	G	I	F	L	N				
CONSENSUS		R	A	S	Q	G S	I V	G S	X	Y F	L	A N				
L28		S	G	D	K	L	G	D	K	Y	V	G				
L22		Q	G	D	S	L	R	I	Y	Y	T	G				
OVERALL CONSENSUS		R	S	S	Q	S	L I	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Fig 5

Light Chain	CDR2 Sequence
L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L10, L11, L13, L14, L16, L17, L19, L20, L23, L24, L25, L26, L29, L30, L32, L34, L38, L39, L42, L44, L46, L48	L G S N R A S
L15, L21	L G S Y R A S
L33	L V S N R A S
L37	L G S N R D S
L45, L52	L G S T R A S
L47	L G F N R A S
CONSENSUS	L G S N R A S
L27, L31	A A S T L Q S
L18	A A S G L Q S
L41	A T S T L E S
CONSENSUS	A A S T L Q S
L12, L36, L49	E D N Q R P S
L35, L51	E D N R R P S
L28	Q D N K R P S
L22	G K N N R P S
CONSENSUS	E D N X R P S
L40	D A S R R A T
L43	D A S N R A T
L50	G A G Y R A T

Fig 6

Light Chain	CDR3 Sequence									
L3, L5, L6, L7, L8 L13, L14, L17, L23, L29, L32, L34, L38, L39, L42, L44, L46	M	Q	A	L	Q	T	P	L	T	
L52	M	Q	A	F	Q	T	P	L	T	
L1, L2, L11, L15, L25	M	Q	A	L	Q	T	P	I	T	
L19, L45	M	Q	A	L	Q	T	P	Y	T	
L9, L20	M	Q	A	L	Q	T	P	F	T	
L4	M	Q	A	L	Q	T	P	H	T	
L24	M	Q	A	L	Q	T	P	N	T	
L10	M	Q	A	L	Q	T	P	L	A	
L47	M	Q	G	L	Q	T	P	L	T	
L26	M	Q	A	L	E	M	P	L	T	
L30	M	E	A	L	Q	T	P	F	T	
L33	M	Q	T	L	Q	T	P	L	S	
L16	M	Q	G	T	H	W	P	L	T	
L21	M	Q	S	L	E	V	P	F	T	
L48	M	Q	A	T	H	W	P	Y	T	
L37	M	Q	G	T	H	W	P	Y	T	
CONSENSUS	M	Q	A	L	Q	T	P	*	T	

"*" = *nonpolar side chain amino acid*

L40	Q	Q	R	N	N	W	P	L	T	
L43	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	
L41	Q	Q	S	N	S	V	P	L	T	
L27	Q	Q	L	N	S	Y	P	L	T	
L31	Q	Q	S	H	S	P	P	Y	T	
L18	Q	Q	A	S	S	F	P	I	T	
CONSENSUS	Q	Q	R S	N S	S N	*	P	L	T	

"*" = *nonpolar side chain amino acid*

L12	Q	S	Y	D	S	S	N	Q	R	V
L51	Q	S	Y	D	P	Y	N	R	V	
L36	Q	S	Y	D	S	S	N	V	-	V
L35	Q	S	Y	Q	S	D	N	W	-	V
L49	Q	S	Y	D	S	A	N	V	I	
	Q	S	Y	D	S	S	N	X	V	
L28	Q	A	W	D	S	G	T	V		
L50	Q	H	Y	G	S	S	L	R	T	
L22	N	S	R	D	I	T	G	V	H	R

Fig 7

Heavy Chain	CDR1 Sequence						
H1, H2, H3, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H13, H14, H15, H16, H17, H19, H20, H23, H25, H26, H29, H30, H32, H33, H34, H37, H38, H39, H44, H46, H47, H52	S	S	N	W	W	S	
H42, H45	-	S	N	W	W	S	
H21	S	N	I	W	W	S	
CONSENSUS	S	S	N	W	W	S	
H4, H36, H49	G	Y	Y	W	S		
H50	N	Y	D	W	S		
H28	N	Y	Y	W	S		
H22	D	F	Y	W	S		
CONSENSUS	X	Y	Y	W	S		
H12, H18	S	Y	A	M	S		
H40, H43, H51	S	Y	A	I	S		
H31, H35	S	Y	G	M	H		
H41, H48	S	Y	A	M	H		
CONSENSUS	S	Y	A	M	S H		
H27	S	H	G	M	H		
H24	S	S	S	Y	Y	W	G

Fig 8

Heavy Chain	CDR2 Sequence																
H1, H2, H3, H5, H6, H7, H10, H11, H13, H14, H15, H16, H17, H19, H20, H23, H25, H26, H29, H30, H32, H33, H34, H37, H38, H39, H42, H44, H45, H46, H47, H52	E	I	Y	H	S	G	S	T	N	Y	N	P	S	L	K	S	
H8	E	I	Y	H	S	G	S	T	N	Y	N	P	S	L	E	S	
H36, H49	E	I	N	H	S	G	S	T	N	Y	N	P	S	L	K	S	
H21	E	V	Y	H	S	G	S	T	N	Y	N	P	S	L	K	S	
H4	E	I	N	H	S	G	S	T	N	Y	N	R	S	L	K	S	
H9	Y	I	Y	Y	S	G	S	T	Y	Y	N	P	S	L	K	S	
H50	T	I	Y	S	S	G	S	T	Y	Y	S	P	S	L	K	S	
H24	S	I	Y	Y	S	G	S	T	Y	Y	N	P	S	L	K	S	
H28	Y	I	S	D	S	G	N	T	N	Y	N	P	S	L	K	S	
H22	E	V	N	P	R	G	S	T	N	Y	N	P	S	L	K	S	
CONSENSUS	E Y	I V	Y N	H Y	S	G	S	T	N Y	Y	N	P	S	L	K	S	
H18	T	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
H12	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
H41	T	I	S	S	N	G	D	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
H27, H31	V	I	S	Y	D	G	S	N	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G
H35	Y	I	S	S	S	S	S	T	I	Y	Y	A	D	S	V	K	G
CONSENSUS	X	I	S	G S	S	G	G S	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
H40, H43	R	I	I	P	I	L	G	I	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G
H48	W	I	N	A	G	N	G	N	T	K	Y	S	Q	K	F	Q	G
H51	I	I	N	P	S	G	G	S	T	S	Y	A	Q	K	F	Q	G

Fig 9

Heavy Chain	**CDR3 Sequence**															
H5	-	Y	S	S	S	R	N	D	A	F	D	I				
H6	-	-	-	D	G	Q	L	D	A	F	D	I				
H9	-	-	-	W	S	Y	L	D	A	F	D	I				
H11	-	-	-	A	N	R	D	D	A	F	D	I				
H13	E	G	N	R	T	V	T	S	A	F	D	I				
H16	-	-	W	T	G	R	T	D	A	F	D	I				
H17	-	-	-	Q	G	A	L	D	A	F	D	I				
H20	-	S	S	S	W	Y	W	N	A	F	D	I				
H25	-	-	-	-	S	G	Y	D	A	F	D	I				
H32	-	-	-	-	A	S	V	D	A	F	D	I				
H39	-	-	-	L	S	F	A	D	P	F	D	I				
H41	-	-	E	E	V	W	L	Q	A	F	D	I				
H45	-	-	-	-	I	R	Y	D	A	F	D	I				
H46	-	-	-	T	A	A	H	D	A	F	D	I				
H51			D	R	W	R	Y	D	A	F	D	I				
CONSENSUS	-	-	-	X	S	R	L	D	A	F	D	I				
H7			-	-	-	-	-	F	W	D	Y	Y	G	M	D	V
H52										E	K	S	G	M	D	V
H8			-	-	-	-	-	-	D	R	Y	Y	G	M	D	V
H10			-	-	-	-	-	D	Y	D	I	F	G	M	D	V
H18			-	E	R	G	S	G	W	S	L	D	N	M	D	V
H19			-	-	-	-	D	S	S	G	F	Y	G	M	D	V
H24			-	-	-	D	G	G	Y	Y	Y	Y	G	M	D	V
H48								H	S	Y	Y	Y	G	M	D	V
H30			-	-	-	V	S	G	Y	Y	Y	Y	G	M	D	V
H31			A	Y	S	S	G	W	Y	D	Y	Y	G	M	D	V
H37			-	-	-	D	S	S	S	W	Y	Y	G	M	D	V
H40			-	G	S	G	S	Y	Y	D	Y	Y	Y	M	D	V
H42			-	-	-	-	-	-	-	D	K	G	Y	M	D	V
CONSENSUS			-	-	-	-	S	X	Y	D	Y	Y	G	M	D	V
H2	-	-	-	-	G	V	E	Q	I	D	Y					
H3	-	-	N	L	A	A	G	A	V	A	Y					
H4	-	-	L	S	Y	G	S	G	V	D	Y					
H12	-	G	G	W	Y	G	D	Y	F	D	Y					
H23	-	G	I	A	A	A	G	Q	G	D	Y					
H26	-	Y	S	Y	G	T	V	G	I	D	Y					
H27	-	-	-	I	G	P	G	G	F	D	Y					
H29	-	-	V	G	S	G	W	Y	V	D	Y					
H34	-	-	-	-	D	H	G	P	F	D	Y					
H35	D	R	F	G	S	G	H	L	P	D	Y					
H36	V	G	Y	S	S	G	R	D	V	D	Y					
H38	-	-	-	-	S	T	W	S	L	D	Y					
H44	-	-	-	D	L	T	G	S	L	D	Y					
H47	-	D	S	S	G	Q	G	Y	F	D	Y					
CONSENSUS	-	-	X	X	G	G	G	X	*	D	Y					

"" = nonpolar side chain amino acids*

H22	G	P	R	P	G	R	D	G	Y	N	Y	F	D	N
H28	-	-	-	H	R	S	S	W	A	W	Y	F	D	L
H43	-	-	D	H	R	F	D	Y	A	W	Y	F	D	L
CONSENSUS	-	-	X	H	R	X	D	X	A	W	Y	F	D	L
H1	F	N	Y	Y	D	S	S	V						
H14, H15, H33	-	G	L	G	D	S	S	G	Y	I	L			
H19	-	-	-	-	D	S	S	G	F	Y	G	M	D	V
H37	-	-	-	-	D	S	S	S	W	Y	Y	G	M	D	V

H47	-	-	-	-	D	S	S	G	Q	G	Y	F	D	Y
CONSENSUS	-	-	-	-	D	S	S	G	X	X	X	-	-	-
H21	Y	R	S	F	G	E	S	Y						
H49	V	G	Y	S	H	G	E	E	V	L	D	V		
H50	A	R	G	Y	S	S	P	F	D	P				

Fig 10

```
   1 MKSGSGGGSP TSLWGLLFLS AALSLWPTSG EICGPGIDIR NDYQQLKRLE NCTVIEGYLH
  61 ILLISKAEDY RSYRFPKLTV ITEYLLLFRV AGLESLGDLF PNLTVIRGWK LFYNYALVIF
 121 EMTNLKDIGL YNLRNITRGA IRIEKNADLC YLSTVDWSLI LDAVSNNYIV GNKPPKECGD
 181 LCPGTMEEKP MCEKTTINNE YNYRCWTTNR CQKMCPSTCG KRACTENNEC CHPECLGSCS
 241 APDNDTACVA CRHYYYAGVC VPACPPNTYR FEGWRCVDRD FCANILSAES SDSEGFVIHD
 301 GECMQECPSG FIRNGSQSMY CIPCEGPCPK VCEEEKKTKT IDSVTSAQML QGCTIFKGNL
 361 LINIRRGNNI ASELENFMGL IEVVTGYVKI RHSHALVSLS FLKNLRLILG EEQLEGNYSF
 421 YVLDNQNLQQ LWDWDHRNLT IKAGKMYFAF NPKLCVSEIY RMEEVTGTKG RQSKGDINTR
 481 NNGERASCES DVLHFTSTTT SKNRIIITWH RYRPPDYRDL ISFTVYYKEA PFKNVTEYDG
 541 QDACGSNSWN MVDVDLPPNK DVEPGILLHG LKPWTQYAVY VKAVTLTMVE NDHIRGAKSE
 601 ILYIRTNASV PSIPLDVLSA SNSSSQLIVK WNPPSLPNGN LSYYIVRWQR QPQDGYLYRH
 661 NYCSKDKIPI RKYADGTIDI EEVTENPKTE VCGGEKGPCC ACPKTEAEKQ AEKEEAEYRK
 721 VFENFLHNSI FVPRPERKRR DVMQVANTTM SSRSRNTTAA DTYNITDPEE LETEYPFFES
 781 RVDNKERTVI SNLRPFTLYR IDIHSCNHEA EKLGCSASNF VFARTMPAEG ADDIPGPVTW
 841 EPRPENSIFL KWPEPENPNG LILMYEIKYG SQVEDQRECV SRQEYRKYGG AKLNRLNPGN
 901 YTARIQATSL SGNGSWTDPV FFYVQAKTGY ENFIHLDEVD GCKPCICTVP EVSSVFIFPP
 961 KPKDVLTITL TPKVTCVVVD ISKDDPEVQF SWFVDDVEVH TAQTQPREEQ FNSTFRSVSE
1021 LPIMHQDWLN GKEFKCRVNS AAFPAPIEKT ISKTKGRPKA PQVYTIPPPK EQMAKDKVSL
1081 TCMITDFFPE DITVEWQWNG QPAENYKNTQ PIMDTDGSYF VYSKLNVQKS NWEAGNTFTC
1141 SVLHEGLHNH HTEKSLSHSP GK
```

Fig 11

```
   1 MGTGGRRGAA AAPLLVAVAA LLLGAAGHLY PGEVCPGMDI RNNLTRLHEL ENCSVIEGHL
  61 QILLMFKTRP EDFRDLSFPK LIMITDYLLL FRVYGLESLK DLFPNLTVIR GSRLFFNYAL
 121 VIFEMVHLKE LGLYNLMNIT RGSVRIEKNN ELCYLATIDW SRILDSVEDN HIVLNKDDNE
 181 ECGDICPGTA KGKTNCPATV INGQFVERCW THSHCQKVCP TICKSHGCTA EGLCCHSECL
 241 GNCSQPDDPT KCVACRNFYL DGRCVETCPP PYYHFQDWRC VNFSFCQDLH HKCKNSRRQG
 301 CHQYVIHNNK CIPECPSGYT MNSSNLLCTP CLGPCPKVCH LLEGEKTIDS VTSAQELRGC
 361 TVINGSLIIN IRGGNNLAAE LEANLGLIEE ISGYLKIRRS YALVSLSFFR KLRLIRGETL
 421 EIGNYSFYAL DNQNLRQLWD WSKHNLTTTQ GKLFFHYNPK LCLSEIHKME EVSGTKGRQE
 481 RNDIALKTNG DKASCENELL KFSYIRTSFD KILLRWEPYW PPDFRDLLGF MLFYKEAPYQ
 541 NVTEFDGQDA CGSNSWTVVD IDPPLRSNDP KSQNHPGWLM RGLKPWTQYA IFVKTLVTFS
 601 DERRTYGAKS DIIYVQTDAT NPSVPLDPIS VSNSSSQIIL KWKPPSDPNG NITHYLVFWE
 661 RQAEDSELFE LDYCLKGLKL PSRTWSPPFE SEDSQKHNQS EYEDSAGECC SCPKTDSQIL
 721 KELEESSFRK TFEDYLHNVV FVPRKTSSGT GAEDPRPSRK RRSLGDVGNV TVAVPTVAAF
 781 PNTSSTSVPT SPEEHRPFEK VVNKESLVIS GLRHFTGYRI ELQACNQDTP EERCSVAAYV
 841 SARTMPEAKA DDIVGPVTHE IFENNVVHLM WQEPKEPNGL IVLYEVSYRR YGDEELHLCV
 901 SRKHFALERG CRLRGLSPGN YSVRIRATSL AGNGSWTEPT YFYVTDYLDV PSNIAKVDGC
 961 KPCICTVPEV SSVFIFPPKP KDVLTITLTP KVTCVVVDIS KDDPEVQFSW FVDDVEVHTA
1021 QTQPREEQFN STFRSVSELP IMHQDWLNGK EFKCRVNSAA FPAPIEKTIS KTKGRPKAPQ
1081 VYTIPPPKEQ MAKDKVSLTC MITDFFPEDI TVEWQWNGQP AENYKNTQPI MDTDGSYFVY
1141 SKLNVQKSNW EAGNTFTCSV LHEGLHNHHT EKSLSHSPGK
```

Fig 12

```
   1  MKSGSGGG SPTSLWGLLF LSAALSLWPT SGEICGPGID IRNDYQQLKR
  51  LENCTVIEGY LHILLISKAE DYRSYRFPKL TVITEYLLLF RVAGLESLGD
 101  LFPNLTVIRG WKLFYNYALV IFEMTNLKDI GLYNLRNITR GAIRIEKNAD
 151  LCYLSTVDWS LILDAVSNNY IVGNKPPKEC GDLCPGTMEE KPMCEKTTIN
 201  NEYNYRCWTT NRCQKMCPST CGKRACTENN ECCHPECLGS CSAPDNDTAC
 251  VACRHYYYAG VCVPACPPNT YRFEGWRCVD RDFCANILSA ESSDSEGFVI
 301  HDGECMQECP SGFIRNGSQS MYCIPCEGPC PKVCEEEKKT KTIDSVTSAQ
 351  MLQGCTIFKG NLLINIRRGN NIASELENFM GLIEVVTGYV KIRHSHALVS
 401  LSFLKNLRLI LGEEQLEGNY SFYVLDNQNL QQLWDWDHRN LTIKAGKMYF
 451  AFNPKLCVSE IYRMEEVTGT KGRQSKGDIN TRNNGERASC ESDVLHFTST
 501  TTSKNRIIIT WHRYRPPDYR DLISFTVYYK EAPFKNVTEY DGQDACGSNS
 551  WNMVDVDLPP NKDVEPGILL HGLKPWTQYA VYVKAVTLTM VENDHIRGAK
 601  SEILYIRTNA SVPSIPLDVL SASNSSSQLI VKWNPPSLPN GNLSYYIVRW
 651  QRQPQDGYLY RHNYCSKDKI PIRKYADGTI DIEEVTENPK TEVCGGEKGP
 701  CCACPKTEAE KQAEKEEAEY RKVFENFLHN SIFVPRPERK RRDVMQVANT
 751  TMSSRSRNTT AADTYNITDP EELETEYPFF ESRVDNKERT VISNLRPFTL
 801  YRIDIHSCNH EAEKLGCSAS NFVFARTMPA EGADDIPGPV TWEPRPENSI
 851  FLKWPEPENP NGLILMYEIK YGSQVEDQRE CVSRQEYRKY GGAKLNRLNP
 901  GNYTARIQAT SLSGNGSWTD PVFFYVQAKT GYEAAAARKC SLTGKWTNDL
 951  GSNMTIGAVN SKGEFTGTYT TAVTATSNEI KESPLHGTQN TINKRTQPTF
1001  GFTVNWKFSE STTVFTGQCF IDRNGKEVLK TMWLLRSSVN DIGDDWKATR
1101  VGINIFTRLR TQKE
```

Fig 13

Kappa light chain constant region

Nucleotide Sequence

cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgc
tgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagt
gtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaa
acacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

Amino acid sequence

rtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstysls
stltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

IgG1 heavy chain constant region

Nucleotide Sequence

gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggct
gcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttc
ccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacc
tacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactca
cacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggggggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccc
tcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggt
acgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtca
gcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagc
ccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccggga
tgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggaga
gcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctatagcaag
ctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccacta
cacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

Amino acid sequence

astkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvv
tvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppcpapellggpsvflfppkpkdtlmisr
tpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvs
nkalpapiektiskakgqprepqvytlppsrdeltknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykt
tppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

Fig 14

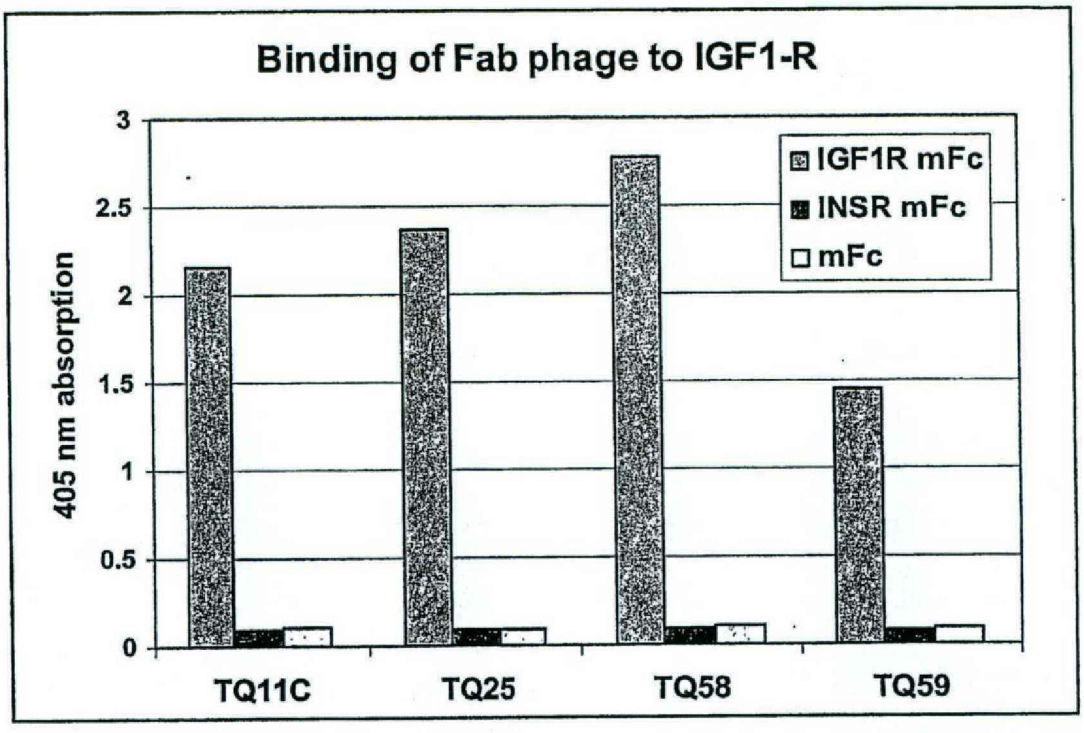
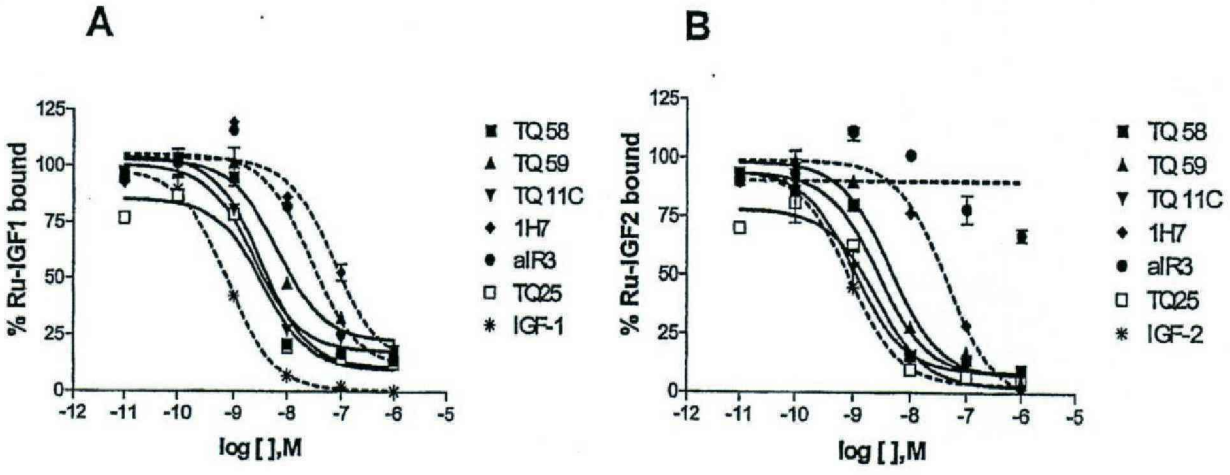

Binding of Fab phage to IGF1-R
405 nm absorption
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
IGF1R mFc
INSR mFc
mFc
TQ11C
TQ25
TQ58
TQ59

Fig 15


A
% Ru-IGF1 bound
125
100
75
50
25
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [ ],M
TQ58
TQ59
TQ11C
1H7
aIR3
TQ25
IGF-1
B
% Ru-IGF2 bound
125
100
75
50
25
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [ ],M
TQ58
TQ59
TQ11C
1H7
aIR3
TQ25
IGF-2

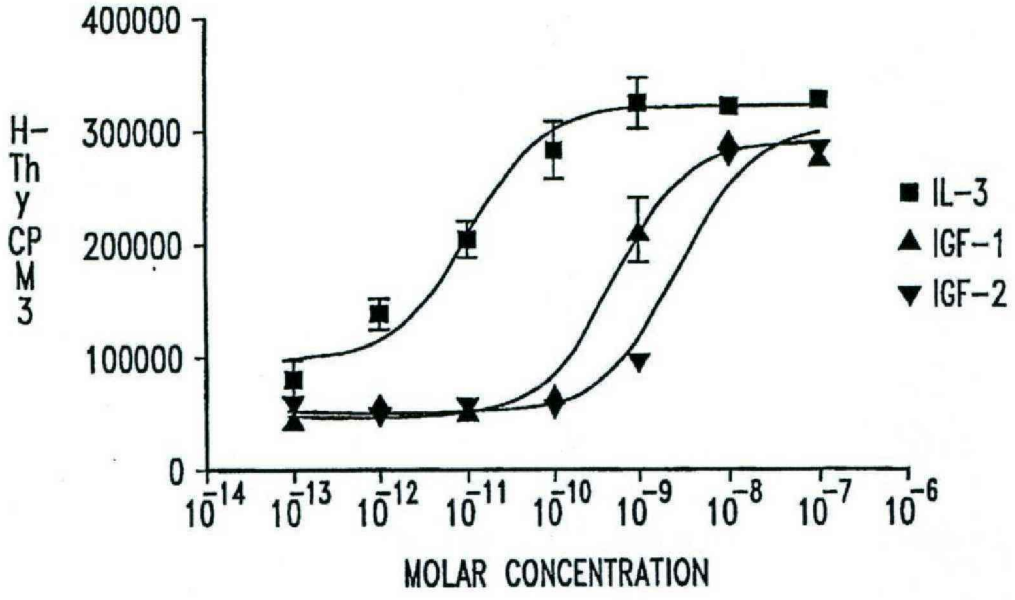


Fig. 16A

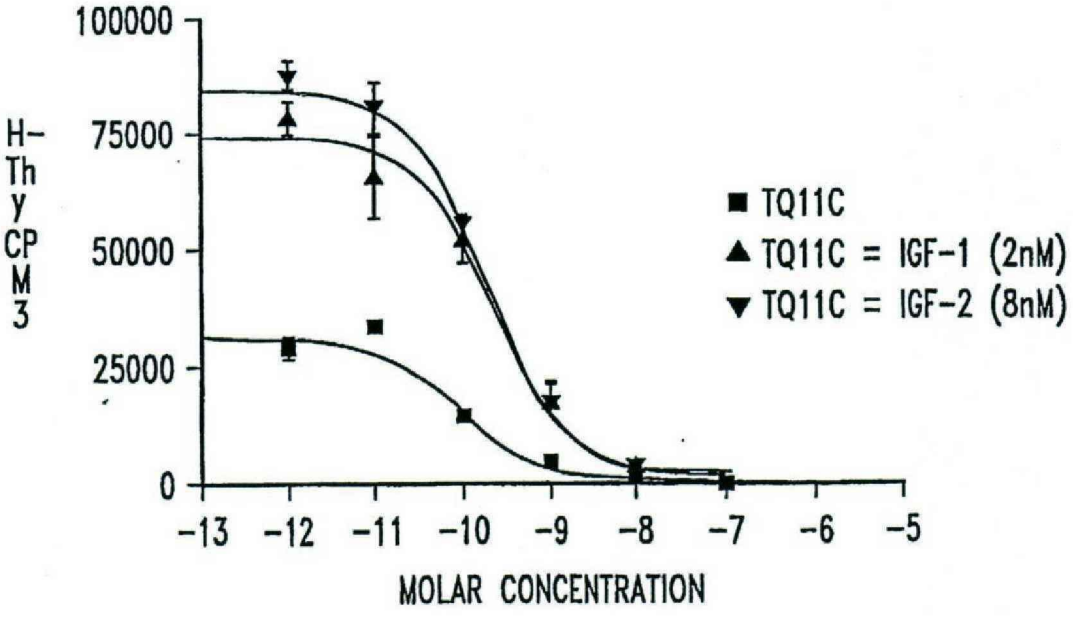


Fig. 16B

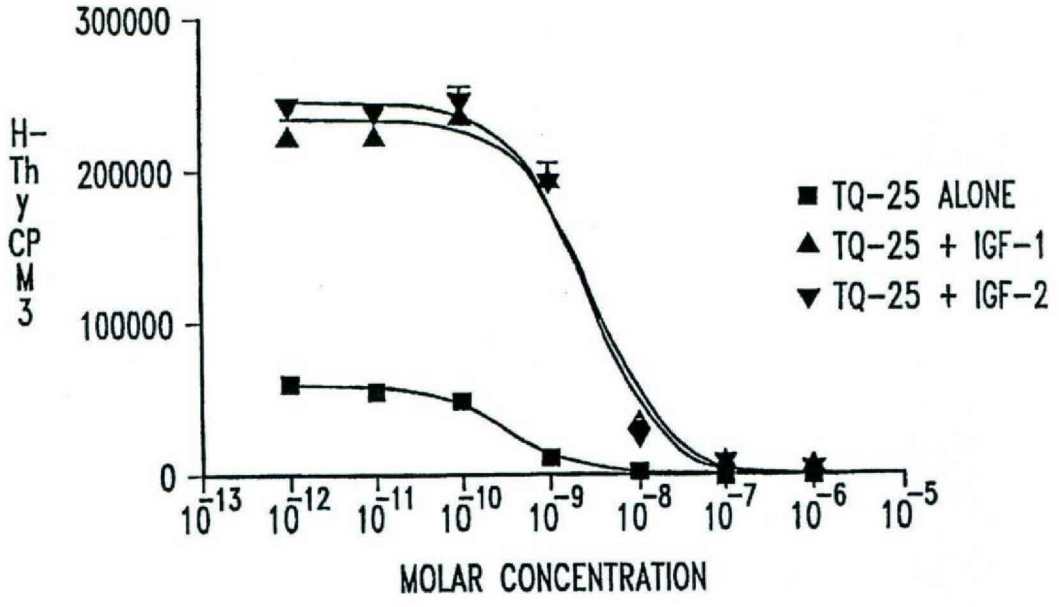


Fig. 16C

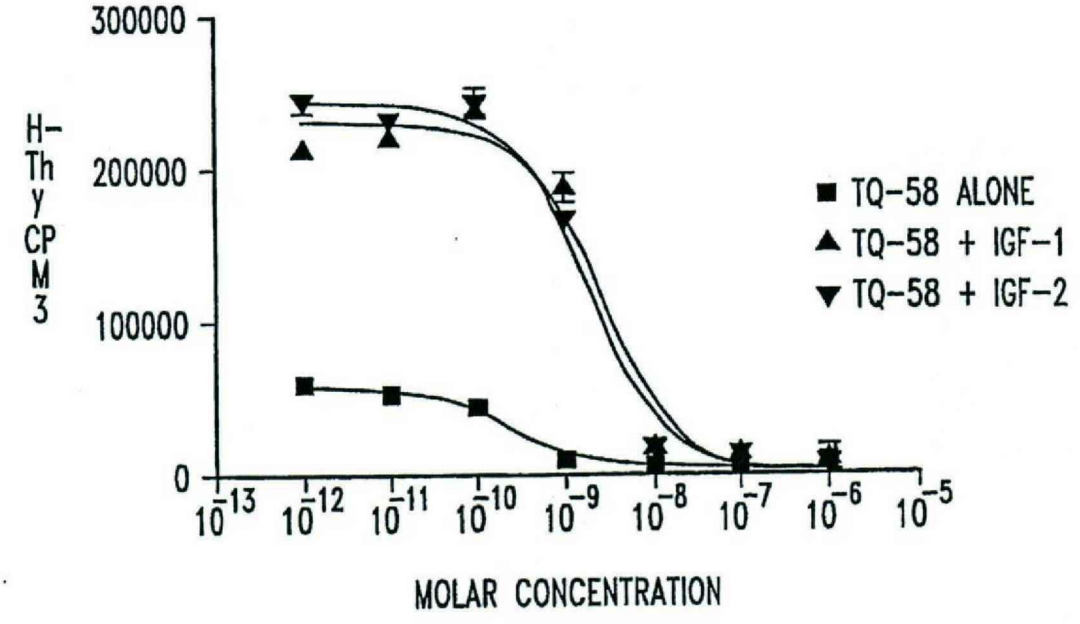


Fig. 16D

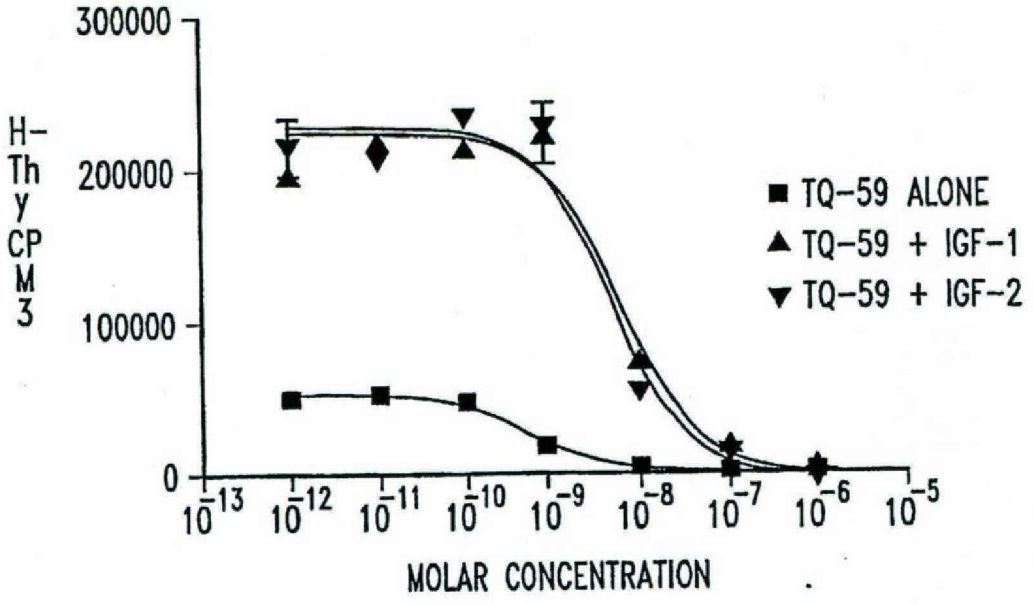


Fig. 16E

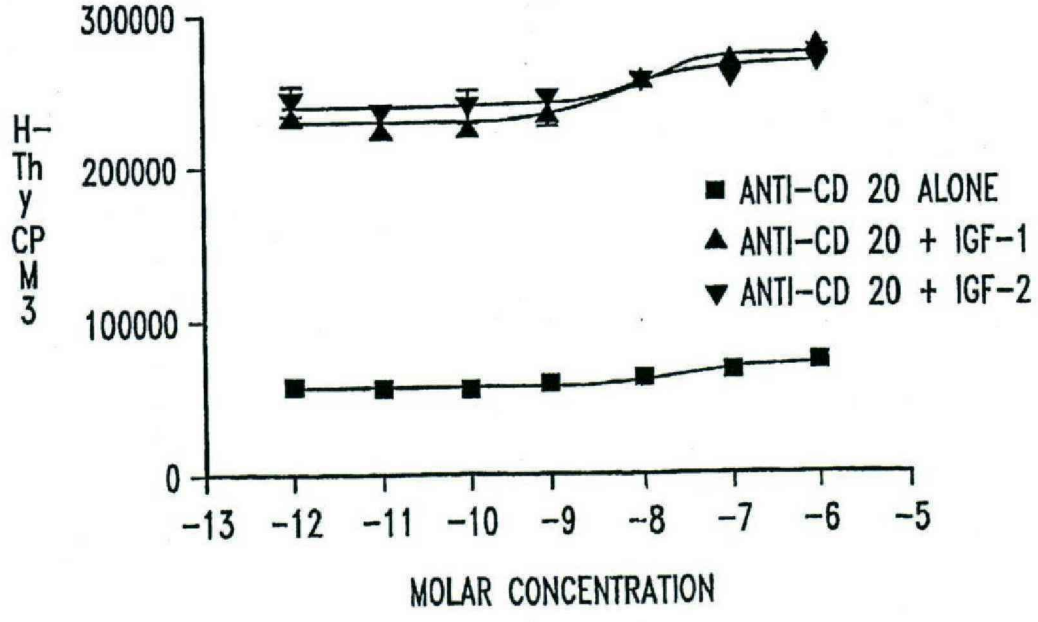


Fig. 16F

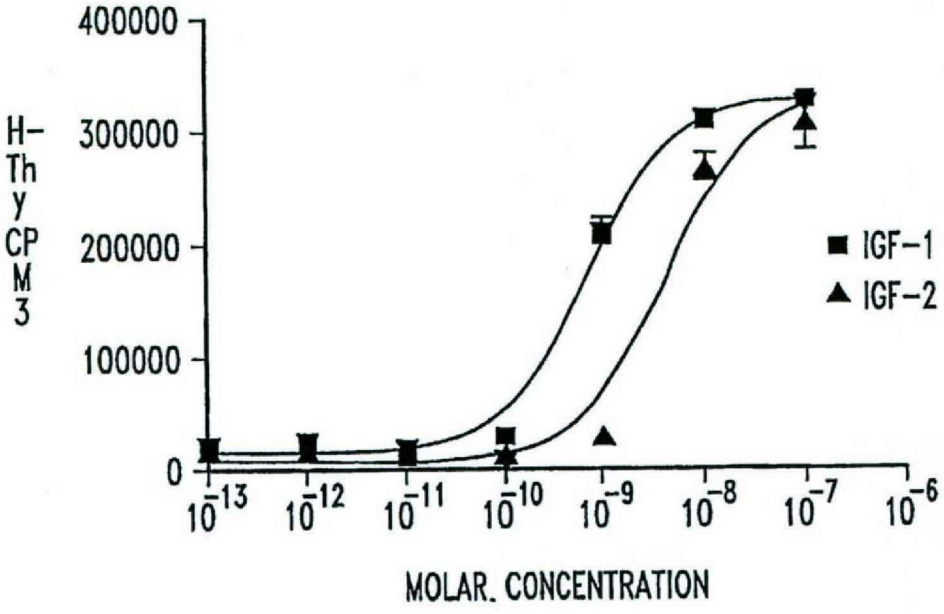


Fig. 17A

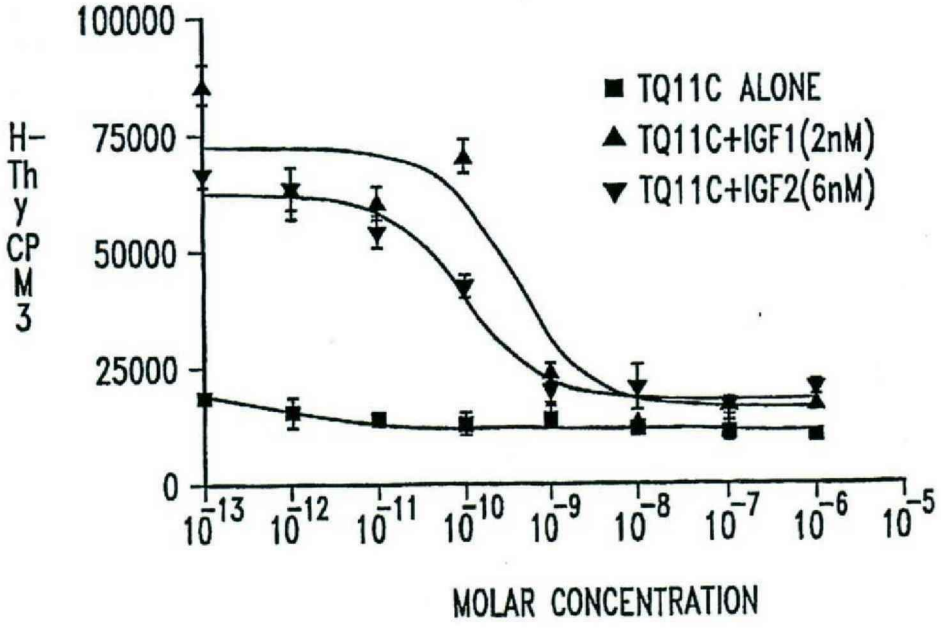


Fig. 17B

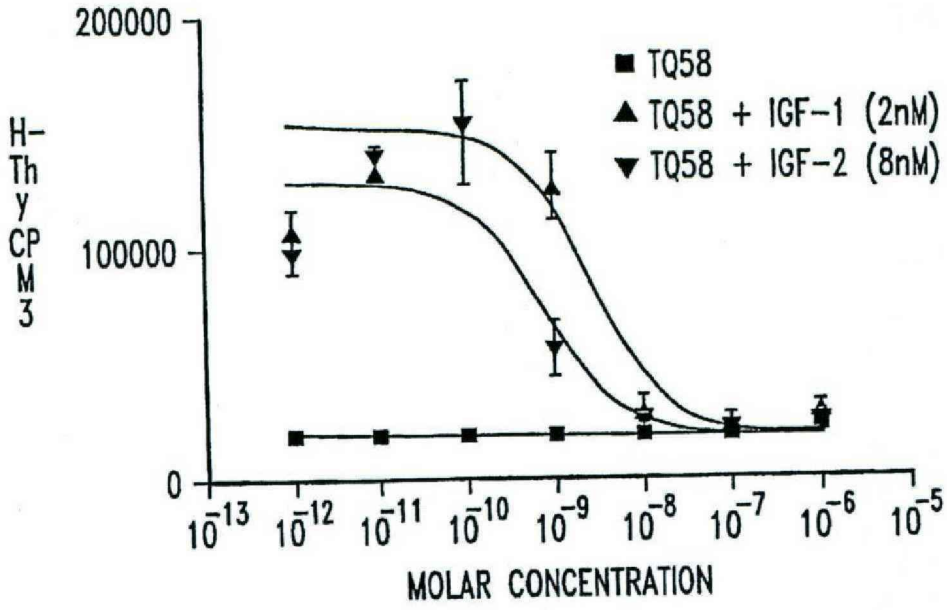


Fig. 17C

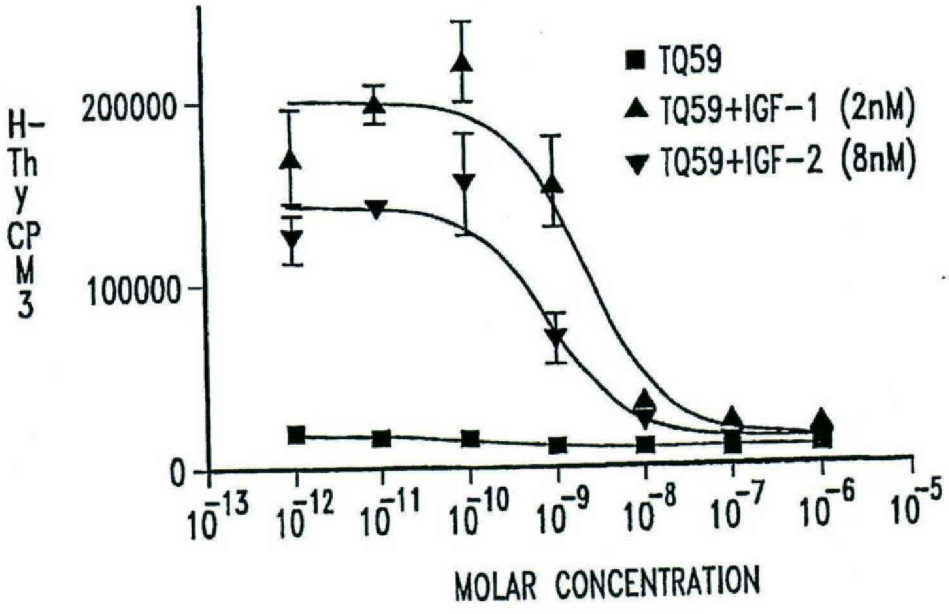


Fig. 17D

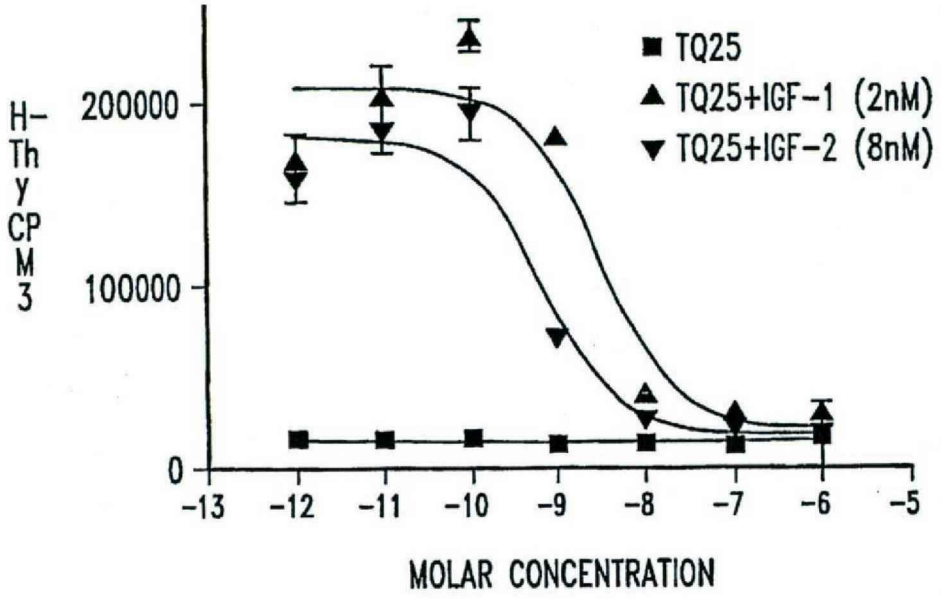


Fig. 17E

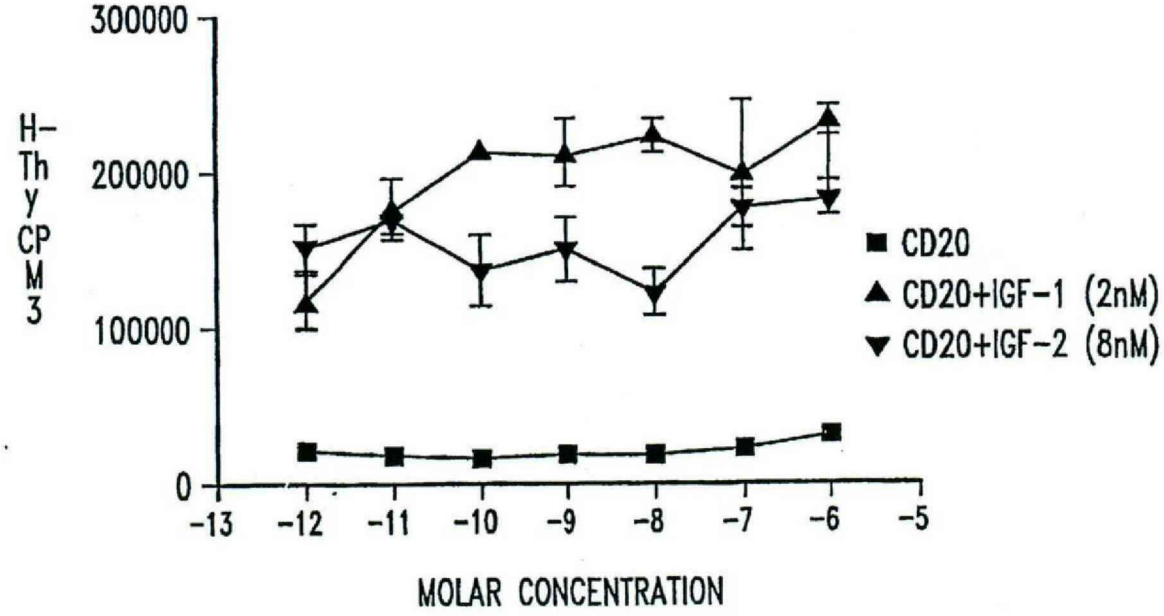


Fig. 17F

SEQUENCE LISTING

<110> Calzone, Frank J.
Deshpande, Rajendra V.
Tsai, Mei-Mei

<120> COMPOSITIONS AND METHODS RELATING TO ANTI IGF-1 RECEPTOR ANTIBODIES

<130> A-954 (WO)

<140> --to be assigned--
<141> 2005-12-20

<150> 60/638,961
<151> 2004-12-22

<160> 279

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 1

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                  10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

agt gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Ser Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act ccg atc acc ttc ggc caa ggg aca cga ctg gag att aaa     336
Leu Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
```

100 105 110

<210> 2
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 2

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Ser Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 3
<211> 327
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(327)

<400> 3
atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga gag ccg gcc 48
Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala
1 5 10 15

tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt aat gga tac 96
Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr

```
          20                  25                  30

aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct cca cag ctc      144
Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu
        35                  40                  45

ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct gac agg ttc      192
Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
    50                  55                  60

agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc agc aga gtg      240
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val
65                  70                  75                  80

gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct cta caa act      288
Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr
                85                  90                  95

ccg atc acc ttc ggc caa ggg aca cga ctg gag att aaa                  327
Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 4
<211> 109
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 4

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

Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr
            20                  25                  30

Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu
        35                  40                  45

Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
    50                  55                  60

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

Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr
                85                  90                  95

Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 5
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 5

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga        48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                  10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt        96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct       144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct       192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc       240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct       288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act cca ctc act ttc ggc ggc ggg acc aag gtg gag atc aaa       336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 6
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 6

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30
```

```
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 7
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 7

```
gaa att gtg atg acg cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act cct cac act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa     336
Leu Gln Thr Pro His Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 8
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 8

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro His Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 9
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 9
gaa att gtg ctg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

```
aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct      144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct      192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc      240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct      288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa acc cct ctc act ttc ggc cct ggg acc aaa gtg gat atc aaa      336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 10
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 10

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 11

<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 11

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg gcc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Thr Pro Gly
1               5                  10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act ccg ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa     336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 12
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 12

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
```

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 13
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 13

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                  10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act cct ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa     336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 14
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 14

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 15
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 15
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

```
aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct      144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct      192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc      240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gaa gat gtt ggg gtt tat tac tgt atg caa gct      288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa acc ccc ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa      336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 16
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 16

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 17
<211> 336

<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 17

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga        48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                  10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt        96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct       144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct       192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc       240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct       288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act ccg ttc acc ttc ggc caa ggg aca cga ctg gag att aaa       336
Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 18
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 18

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45
```

```
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 19
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 19

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act cct ctg gcg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa     336
Leu Gln Thr Pro Leu Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 20
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 20

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 21
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 21
gaa att gtg ctg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

aat gga tac aac tat ttg aat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct 144

```
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct      192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt gcc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc      240
Asp Arg Phe Ser Ala Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct      288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act cct atc acc ttc ggc caa ggg aca cga ctg gag att aaa      336
Leu Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 22
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 22

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

Asp Arg Phe Ser Ala Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 23
<211> 333
<212> DNA

<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(333)

<400> 23

```
aat ttt atg ctg act cag ccc cac tct gtg tcg gag tct ccg ggg aag        48
Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
1               5                   10                  15

acg gta acc atc tcc tgc acc cgc agc agt ggc agc att gcc agc aac        96
Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn
            20                  25                  30

tat gtg cag tgg tac cag cag cgc ccg ggc agt tcc ccc acc act gtg       144
Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ser Pro Thr Thr Val
        35                  40                  45

atc tat gag gat aac caa aga ccc tct ggg gtc cct gat cgg ttc tct       192
Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

ggc tcc atc gac agc tcc tcc aac tct gcc tcc ctc acc atc tct gga       240
Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65                  70                  75                  80

ctg aag act gag gac gag gct gac tac tac tgt cag tct tat gat agc       288
Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser
                85                  90                  95

agc aat cag aga gtg ttc ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta           333
Ser Asn Gln Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105                 110
```

<210> 24
<211> 111
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 24

```
Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
1               5                   10                  15

Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn
            20                  25                  30

Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ser Pro Thr Thr Val
        35                  40                  45
```

```
Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65                  70                  75                  80

Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser
                85                  90                  95

Ser Asn Gln Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105                 110
```

<210> 25
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 25

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa acc ccg ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa     336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 26

<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 26

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 27
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 27
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct 144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

```
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct      192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc      240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct      288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act cct ctt act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa      336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 28
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 28

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 29
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 29
```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga        48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                  10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt        96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg caa aag cca ggg cag tct       144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct tat cgg gcc tcc ggg gtc cct       192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt gcc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc       240
Asp Arg Phe Ser Ala Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct       288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act ccg atc acc ttc ggc caa ggg aca cga ctg gag att aaa       336
Leu Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 30
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 30

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45
```

```
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

Asp Arg Phe Ser Ala Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 31
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 31

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc agg gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa ggt     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
                85                  90                  95

aca cac tgg cct ctg acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gag atc aaa     336
Thr His Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 32
<211> 112

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 32

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
85 90 95

Thr His Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 33
<211> 335
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(333)

<400> 33
gaa att gtg atg acg cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct 144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

```
cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct      192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc      240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct      288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act cct ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aa       335
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
            100                 105                 110
```

<210> 34
<211> 111
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 34

```
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
            100                 105                 110
```

<210> 35
<211> 321
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(321)

<400> 35
gac atc cag ttg acc cag tct cca tct tcc gtg tct gcg tct gtc gga 48
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

gac aga gtc acc atc act tgt cgg gcg agt cag ggt att agc agg tgg 96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Arg Trp
20 25 30

tta gcc tgg tat caa cag aaa cca ggg aaa gcc cct aga ctc ctg atc 144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

tat gct gcg tcc ggt tta caa agt ggg gtc cca tca agg ttc agc ggc 192
Tyr Ala Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc agc aac ctg cag cct 240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

gaa gat ttt gca act tac tat tgt caa cag gct agc agt ttt cca atc 288
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Ser Ser Phe Pro Ile
85 90 95

acc ttc ggc caa ggg aca cga ctg gag act aaa 321
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Thr Lys
100 105

<210> 36
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 36

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Arg Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

```
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Ser Ser Phe Pro Ile
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Thr Lys
            100                 105
```

<210> 37
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 37

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt gga gtt tat tac tgc atg caa gct     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act ccg tac act ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc aaa     336
Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 38
<211> 112
<212> PRT

<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 38

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 39
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 39
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct 144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

```
cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct      192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

aac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc      240
Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct      288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act cca ttc act ttc ggc cct ggg acc aaa gtg gat atc aaa      336
Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 40
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 40

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 41
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 41

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                  10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

cat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
His Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca caa ctt ctg atc tat ttg ggt tct tat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa tct     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser
                85                  90                  95

cta gaa gtt ccg ttc act ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc aaa     336
Leu Glu Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 42
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 42

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

His Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60
```

```
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser
                85                  90                  95

Leu Glu Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 43
<211> 321
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(321)

<400> 43

```
tct tct gag ctg act cag gac cct gct gtg tct gtg gcc ttg gga cag      48
Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1               5                   10                  15

aca gtc agg atc aca tgc caa gga gac agc ctc aga att tat tat aca      96
Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ile Tyr Tyr Thr
            20                  25                  30

ggc tgg tac caa cag aag cca gga cag gcc cct gtg ctt gtc ctc ttt     144
Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Leu Phe
        35                  40                  45

ggt aag aac aat cgg ccc tca ggg atc cca gac cga ttc tct ggc tcc     192
Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

cac tca ggg aac aca gct tcc ttg acc atc act ggg gct caa gcg gaa     240
His Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65                  70                  75                  80

gat gag gct gac tat tac tgt aac tcc cgg gac atc act ggt gtc cat     288
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ile Thr Gly Val His
                85                  90                  95

cga ttc ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta                        321
Arg Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 44
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 44

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

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

Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Leu Phe
35 40 45

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

His Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ile Thr Gly Val His
85 90 95

Arg Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 45
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 45
gaa att gtg ctg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct 144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct 192

```
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc      240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct      288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act cct ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa      336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110


<210>  46
<211>  112
<212>  PRT
<213>  Artificial

<220>
<223>  Synthetic Construct

<400>  46

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


Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30


Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45


Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60


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


Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95


Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110


<210>  47
<211>  336
<212>  DNA
<213>  Artificial

<220>
<223>  light chain variable region
```

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 47
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct 144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct 192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc 240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct 288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

cta caa act cct aac act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa 336
Leu Gln Thr Pro Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 48
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 48

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

```
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 49
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 49

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act cca atc act ttc ggc cct ggg acc aaa gtg gat atc aaa     336
Leu Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 50
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 50

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105 110

<210> 51
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 51
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

aat gga tac acc tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct 144
Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

cca caa ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct 192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

```
    50                  55                  60

gac agg ttc agc ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc      240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag cct gag gat gtt ggg gtc tat tac tgc atg caa gct      288
Ser Arg Val Glu Pro Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta gaa atg ccc ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa      336
Leu Glu Met Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 52
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 52

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Pro Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Glu Met Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 53
<211> 321
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(321)

<400> 53

```
gac atc cag ttg acc cag tct cca tcc ttc ctg tct gca tct gta gga      48
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

gac aga gtc acc atc act tgc cgg gcc agt cag ggc att agc agt tat      96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

tta gcc tgg tat cag caa aaa cca ggg aaa gcc cct aag ctc ctg atc     144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

tat gct gca tcc act ttg caa agt ggg gtc cca tca agg ttc agc ggc     192
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

agt gga tct ggg aca gaa ttc act ctc aca atc agc agc ctg cag cct     240
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

gaa gat ttt gca act tat tac tgt caa cag ctt aat agt tac ccc ctc     288
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu
                85                  90                  95

act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa                        321
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 54
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 54

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser 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 Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 55
<211> 315
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(315)

<400> 55

```
tcc tat gtg ctg act cag cca ccc tca gtg tcc gtg tcc cca gga cag      48
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1               5                   10                  15

aca gcc agc atc acc tgc tct gga gat aaa ttg ggg gat aaa tat gtt      96
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Val
            20                  25                  30

ggc tgg tat cag caa aag gca ggc caa gcc cct gtt ttg gtc atc tat     144
Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Ala Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
        35                  40                  45

caa gac aac aag cga ccc tca ggg atc cct gag cga ttc tct ggc tcc     192
Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

aac tct ggg aac aca gcc agt ctg acc atc agc ggg acc cag gct atg     240
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65                  70                  75                  80

gat gag gct gac tat tac tgt cag gcg tgg gac agc ggc acg gtg ttc     288
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Gly Thr Val Phe
                85                  90                  95

ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta                                 315
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 56
<211> 105
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 56

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

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

Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Ala Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Gly Thr Val Phe
85 90 95

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 57
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 57
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct 144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct 192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

```
gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc      240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct      288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa acc ccc ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa      336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 58
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 58

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 59
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 59
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct 144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct 192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc 240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg gaa gct 288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Glu Ala
85 90 95

cta caa act cca ttc act ttc ggc cct ggg acc aag gtg gaa atc aaa 336
Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 60
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 60

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

```
65                  70                  75                  80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Glu Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 61
<211> 321
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(321)

<400> 61

```
gac atc cag ttg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gcg tct gtg gga       48
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

gac aga gtc acc atc act tgc cgg tca agt caa ggc att ggt tac ttc       96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Gly Ile Gly Tyr Phe
            20                  25                  30

tta aat tgg tat cag cag gaa cca ggg aaa gcc cca aag atc ctg atc      144
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Glu Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ile Leu Ile
        35                  40                  45

tct gct gca tcc act ttg caa agt ggg gtc cca tca agg ttc agt ggc      192
Ser Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

agt gga tct ggg aca gat ttc aca ctc tcc atc aac aat ctg caa ccc      240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Asn Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

gca gat ttt gcg aca tac tac tgt caa cag agt cac agt ccc ccg tac      288
Ala Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Ser Pro Pro Tyr
                85                  90                  95

act ttc ggc cag ggg acc aag gtg gag atc aaa                         321
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 62
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 62

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Gly Ile Gly Tyr Phe
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Glu Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ile Leu Ile
35 40 45

Ser Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

Ala Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Ser Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 63
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 63
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct 144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct 192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

```
gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc      240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct      288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act ccg ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa      336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 64
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 64

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 65
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>

<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 65

```
gaa att gtg ctg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atg tat ttg gtt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Met Tyr Leu Val Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gag agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Glu Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa act     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Thr
                85                  90                  95

cta caa act cct ctc agt ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc aaa     336
Leu Gln Thr Pro Leu Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 66
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 66

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Met Tyr Leu Val Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

Glu Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80
```

```
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Thr
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Leu Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 67
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 67

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act ccg ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa     336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 68
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 68

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 69
<211> 330
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(330)

<400> 69
aat ttt atg ctg act cag ccc cac tct gtg tcg gcg tct ccg ggg aag 48
Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Ala Ser Pro Gly Lys
1 5 10 15

acg gtt acc atc tcc tgc acc cgc agc agt ggc gac att gac aac aac 96
Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Asp Ile Asp Asn Asn
20 25 30

tat gtg cag tgg tac cag cag cgc ccg ggc aat tcc ccc acc aat gtg 144
Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Asn Ser Pro Thr Asn Val
35 40 45

att tat gag gat aac cga aga ccc tct ggg gtc ccg gat cgc ttc tct 192
Ile Tyr Glu Asp Asn Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

ggc tcc atc gac agc tcc tcc aac tct gcc tcc ctc acc atc tct gga 240

```
Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65                  70                  75                  80

ctg cag cct gag gac gag gct gac tac tat tgt cag tct tat caa agc      288
Leu Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Gln Ser
                85                  90                  95

gac aat tgg gtg ttc ggc gga ggg acc aag gtg acc gtc cta               330
Asp Asn Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
            100                 105                 110


<210>  70
<211>  110
<212>  PRT
<213>  Artificial

<220>
<223>  Synthetic Construct

<400>  70

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Ala Ser Pro Gly Lys
1               5                   10                  15


Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Asp Ile Asp Asn Asn
            20                  25                  30


Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Asn Ser Pro Thr Asn Val
        35                  40                  45


Ile Tyr Glu Asp Asn Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60


Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65                  70                  75                  80


Leu Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Gln Ser
                85                  90                  95


Asp Asn Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
            100                 105                 110


<210>  71
<211>  330
<212>  DNA
<213>  Artificial

<220>
<223>  light chain variable region


<220>
<221>  CDS
```

<222> (1)..(330)

<400> 71

```
aat ttt atg ctg act cag ccc cac tct gtg tcg gag tct ccg ggg aag        48
Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
1               5                   10                  15

acg gta acc atc tcc tgc acc cgc agc agt ggc agc att gcc agc aac        96
Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn
            20                  25                  30

tat gtg cag tgg tac cag cag cgc ccg ggc agt tcc ccc acc act gtg       144
Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ser Pro Thr Thr Val
        35                  40                  45

atc tat gag gat aac caa aga ccc tct ggg gtc cct gat cga ttc tct       192
Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

ggc tcc atc gac agc tcc tcc aac tct gcc tcc ctc acc atc tct gga       240
Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65                  70                  75                  80

ctg aag act gag gac gag gct gac tac tac tgt cag tct tat gat agc       288
Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser
                85                  90                  95

agc aat gtg gtg ttc ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta               330
Ser Asn Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105                 110
```

<210> 72
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 72

```
Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
1               5                   10                  15

Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn
            20                  25                  30

Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ser Pro Thr Thr Val
        35                  40                  45

Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65                  70                  75                  80
```

```
Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser
                85                  90                  95

Ser Asn Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105                 110
```

<210> 73
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 73

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct ggg        48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt        96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct       144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aac cgg gac tct ggg gtc cca       192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac aga ttc agc ggc agt ggg tca ggc act gat ttc aca ctg aaa atc       240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc agg gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa ggt       288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
                85                  90                  95

aca cac tgg ccg tac act ttt ggc cag ggg acc agg ctg gag atc aaa       336
Thr His Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 74
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 74

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
                85                  90                  95

Thr His Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 75
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 75

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                  10                  15

gag tcg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac ttt ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
```

65 70 75 80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct 288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

cta caa act cct ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa 336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 76
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 76

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

Glu Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 77
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 77
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct 144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct 192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc 240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct 288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

cta caa acc ccc ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa 336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 78
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 78

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

```
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 79
<211> 321
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(321)

<400> 79

```
gaa acg aca ctc acg cag tct cca gcc acc ctg tct ttg tct cca ggg      48
Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

caa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtc tac aac tac      96
Gln Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Tyr Asn Tyr
            20                  25                  30

tta gcc tgg tac caa cag aag cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc atc     144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

tat gat gca tcc aga agg gca act ggc atc cca gcc agg ttc agt ggc     192
Tyr Asp Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc agc cta gag cct     240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

gaa gat ttt gca gtt tat tac tgt cag cag cgt aac aac tgg ccg ctc     288
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Asn Trp Pro Leu
                85                  90                  95

act ttc ggt gga ggg acc aag gtg gag atc aaa                        321
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 80
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 80

```
Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                  10                  15

Gln Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Tyr Asn Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Asn Trp Pro Leu
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 81
<211> 321
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(321)

<400> 81

```
gac atc cag ttg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gct tct gtt gga      48
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

gac agc gtc acc atc tct tgc cgg gca agt cag agt cct ggc atc ttt      96
Asp Ser Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Pro Gly Ile Phe
            20                  25                  30

tta aat tgg tat cag cag ata cca ggg aaa gcc cct aaa ctc ctg atc     144
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

tac gct aca tcc act ctg gaa agt ggg gtc ccc ccc agg ttc acc ggc     192
Tyr Ala Thr Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Pro Arg Phe Thr Gly
    50                  55                  60

agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc agc agt ctg caa cct     240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
```

gag gac ttt gca act tac tac tgt caa cag agt aac agt gtt ccg ctc 288
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Val Pro Leu
85 90 95

act ttc ggc ggc ggg acc aag gtg gag atc aaa 321
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 82
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 82

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

Asp Ser Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Pro Gly Ile Phe
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Thr Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Pro Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 83
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 83
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga 48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt 96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct 144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct 192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca cta aaa atc 240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct 288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

cta caa act cct cta acc ttc ggc caa ggg aca cga ctg gag att aaa 336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 84
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 84

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 85
<211> 321
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(321)

<400> 85

```
gaa att gtg atg acg cag tct cca gcc acc ctg tct gtg tct cca ggg      48
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

gaa aga gcc acc ttc tcc tgt agg gcc agt cag agt gtt ggc agc aac      96
Glu Arg Ala Thr Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Asn
            20                  25                  30

tta gcc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc atc     144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

tat gat gca tcc aac agg gcc act ggc atc cca gcc agg ttc agt ggc     192
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc aga ctg gag cct     240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

gaa gat ttt gca gtg tat tac tgt cag cag cgt agc aac tgg ccc ctc     288
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
                85                  90                  95

act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa                        321
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 86
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 86

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

```
1               5                  10                  15

Glu Arg Ala Thr Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Asn
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 87
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 87

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                  10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80
```

```
agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct      288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act ccg ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa      336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 88
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 88

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 89
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 89

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                  10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tac ttg ggt tct act cgg gcc tcc ggc gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act cct tac act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa     336
Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 90
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 90

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95
```

```
Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110


<210>  91
<211>  336
<212>  DNA
<213>  Artificial

<220>
<223>  light chain variable region


<220>
<221>  CDS
<222>  (1)..(336)

<400>  91
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

cta caa act ccc ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa     336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110


<210>  92
<211>  112
<212>  PRT
<213>  Artificial

<220>
<223>  Synthetic Construct

<400>  92

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

```
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 93
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(336)

<400> 93

```
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat act      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cgg ctc ctg atc tat ttg ggt ttt aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Phe Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgt atg caa ggt     288
```

```
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
                85                  90                  95

cta caa act ccc ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa      336
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110


<210>  94
<211>  112
<212>  PRT
<213>  Artificial

<220>
<223>  Synthetic Construct

<400>  94

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


Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr
            20                  25                  30


Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45


Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Phe Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60


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


Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
                85                  90                  95


Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110


<210>  95
<211>  336
<212>  DNA
<213>  Artificial

<220>
<223>  light chain variable region


<220>
<221>  CDS
<222>  (1)..(336)

<400>  95
gat gtt gtg atg act cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
```

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

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat agt      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

aat gga tac aac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctc ctg atc tat ttg ggt tct aat cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc agg gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tat tgc atg caa gct     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

aca cac tgg ccg tac act ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc aaa     336
Thr His Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 96
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 96

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95
```

```
Thr His Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110


<210>  97
<211>  330
<212>  DNA
<213>  Artificial

<220>
<223>  light chain variable region


<220>
<221>  CDS
<222>  (1)..(330)

<400>  97
aat ttt atg ctg act cag ccc cac tct gtg tcg gag tct ccg ggg aag      48
Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
1               5                   10                  15

acg gta agc atc tcc tgc acc cgc aac agt ggc agc att gcc agc aac      96
Thr Val Ser Ile Ser Cys Thr Arg Asn Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn
            20                  25                  30

ttt gtg cag tgg tac cag cag cgc ccg ggc agt gcc ccc acc att gta     144
Phe Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ala Pro Thr Ile Val
        35                  40                  45

atc tat gag gat aac caa aga ccc tct gcg gtc cct act cgg ttc tct     192
Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Ala Val Pro Thr Arg Phe Ser
    50                  55                  60

ggc tcc atc gac agg tcc tcc aac tct gcc tcc ctc acc atc tct gga     240
Gly Ser Ile Asp Arg Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65                  70                  75                  80

ctg acg act gag gac gag gct gac tac tac tgt cag tct tat gat agc     288
Leu Thr Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser
                85                  90                  95

gcc aat gtc att ttc ggc ggg ggg acc aag ctg acc gtc cta              330
Ala Asn Val Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105                 110


<210>  98
<211>  110
<212>  PRT
<213>  Artificial

<220>
<223>  Synthetic Construct

<400>  98

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
1               5                   10                  15
```

```
Thr Val Ser Ile Ser Cys Thr Arg Asn Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn
            20                  25                  30

Phe Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ala Pro Thr Ile Val
        35                  40                  45

Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Ala Val Pro Thr Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Ile Asp Arg Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65                  70                  75                  80

Leu Thr Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser
                85                  90                  95

Ala Asn Val Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105                 110
```

<210> 99
<211> 324
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(324)

<400> 99

```
gaa acg aca ctc acg cag tct cca ggc acc ctg tct ttg tct cca ggg      48
Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

gag aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag act atc agc agc agc      96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

cac tta gcc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag tct ccc agg ctc ctc     144
His Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

atc tat ggt gcg ggc tac agg gcc acc ggc att cca gac agg ttc agt     192
Ile Tyr Gly Ala Gly Tyr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

ggc agt ggg tct ggc aca gac ttc act ctc acc atc agc aga ctg gag     240
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

cct gaa gat ttt gca gtg tat tac tgt cag cac tat ggt agt tca ctc     288
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Gly Ser Ser Leu
```

85 90 95

cgg acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa 324
Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 100
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 100

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Ser Ser
20 25 30

His Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Gly Tyr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Gly Ser Ser Leu
85 90 95

Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 101
<211> 330
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(330)

<400> 101
aat ttt atg ctg act cag ccc cac tct gtg tcg gag tct ccg ggg aag 48
Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys

```
1               5                   10                  15

acg gta acc atc tcc tgc acc ggc agc ggt ggc aac att gcc agc aat      96
Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Gly Asn Ile Ala Ser Asn
            20                  25                  30

tat gtg cag tgg tac cag cag cgc ccg ggc agg gcc ccc acc act gtg     144
Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Arg Ala Pro Thr Thr Val
        35                  40                  45

atc tat gag gat aat cga aga ccc tct ggg gtc cct gat cgg ttc tct     192
Ile Tyr Glu Asp Asn Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

ggc tcc atc gac agc tcc tcc aac tct gcc tcc ctc acc atc tct gga     240
Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65                  70                  75                  80

ctg aag act gaa gac gag gct gac tac tac tgt cag tct tat gat ccc     288
Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Pro
                85                  90                  95

tac aat cga gtg ttc ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta             330
Tyr Asn Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105                 110
```

<210> 102
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 102

```
Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
1               5                   10                  15

Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Gly Asn Ile Ala Ser Asn
            20                  25                  30

Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Arg Ala Pro Thr Thr Val
        35                  40                  45

Ile Tyr Glu Asp Asn Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65                  70                  75                  80

Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Pro
                85                  90                  95
```

```
Tyr Asn Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105                 110


<210>  103
<211>  336
<212>  DNA
<213>  Artificial

<220>
<223>  light chain variable region


<220>
<221>  CDS
<222>  (1)..(336)

<400>  103
gaa att gtg atg acg cag tct cca ctc tcc ctg ccc gtc acc cct gga      48
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

gag ccg gcc tcc atc tcc tgc agg tct agt cag agc ctc ctg cat act      96
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr
            20                  25                  30

aat gga tac gac tat ttg gat tgg tac ctg cag aag cca ggg cag tct     144
Asn Gly Tyr Asp Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

cca cag ctt ctg atc tat ttg ggt tct act cgg gcc tcc ggg gtc cct     192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

gac agg ttc agt ggc agt gga tcg ggc aca gat ttt aca ctg aaa atc     240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

agc aga gtg gag gct gag gat gtt ggg gtt tat tac tgc atg caa gct     288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

ttt caa act ccg ctc act ttc ggc gga ggg acc aag atg gag atc aaa     336
Phe Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Met Glu Ile Lys
            100                 105                 110


<210>  104
<211>  112
<212>  PRT
<213>  Artificial

<220>
<223>  Synthetic Construct

<400>  104

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15
```

```
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr
            20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asp Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
                85                  90                  95

Phe Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Met Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 105
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(351)

<400> 105

```
gag gtg cag ctg gtg gag acc ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg      48
Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg     144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc     192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc     240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt     288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

```
gcg aga ttt aat tac tat gat agt agt gtc tgg ggc cag gga acc ctg      336
Ala Arg Phe Asn Tyr Tyr Asp Ser Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

gtc acc gtc tca agc                                                 351
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 106
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 106

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Phe Asn Tyr Tyr Asp Ser Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 107
<211> 348
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(348)

<400> 107
gag gtg cag ctg gtg gag acc ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg 48
Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt 96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg 144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc 192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc 240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt 288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

gcg aga ggg gtt gag cag att gac tac tgg ggc cag gga acc ctg gtc 336
Ala Arg Gly Val Glu Gln Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

acc gtc tca agc 348
Thr Val Ser Ser
115

<210> 108
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 108

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu

```
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Val Glu Gln Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110

Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 109
<211> 354
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(354)

<400> 109

```
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg      48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg     144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc     192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc     240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg act gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt     288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aaa aat tta gca gca ggg gcg gtt gcc tac tgg ggc cag ggc acc     336
Ala Lys Asn Leu Ala Ala Gly Ala Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110
```

ctg gtc acc gtc tca agc 354
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 110
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 110

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asn Leu Ala Ala Gly Ala Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 111
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(351)

<400> 111

```
cag gtg cag cta cag cag tgg ggc gca gga ctg ttg aag cct tcg gag      48
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggg tcc ttc agt ggt tac      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

tac tgg agc tgg atc cgt cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg att     144
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

ggg gaa atc aat cat agt gga agt acc aac tac aac cgg tcc ctc aag     192
Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Arg Ser Leu Lys
    50                  55                  60

agt cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg     240
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gct gtg tat tac tgt gcg     288
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

aga ctt tca tat ggt tcg ggc gtt gac tac tgg ggc cag ggc acc ctg     336
Arg Leu Ser Tyr Gly Ser Gly Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

gtc acc gtc tca agc                                                351
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 112
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 112

```
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 Ala Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Arg Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val 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

Arg Leu Ser Tyr Gly Ser Gly Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 113
<211> 360
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(360)

<400> 113

```
cag ctg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tca cag      48
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc act gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg     144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc     192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc     240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt     288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg agg tat agc agc agc cgc aat gat gct ttt gat atc tgg ggc caa     336
Ala Arg Tyr Ser Ser Ser Arg Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
            100                 105                 110

ggg aca atg gtc acc gtc tca agc                                    360
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 114
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 114

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Ser Ser Ser Arg Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 115
<211> 354
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(354)

<400> 115
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg 48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt 96

```
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
          20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg      144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
       35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc      192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc      240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt      288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gat ggg cag ctg gat gct ttt gat atc tgg ggc caa ggg aca      336
Ala Arg Asp Gly Gln Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
          100                 105                 110

atg gtc acc gtc tca agc                                             354
Met Val Thr Val Ser Ser
       115
```

<210> 116
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 116

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
          20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
       35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

```
Ala Arg Asp Gly Gln Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110


Met Val Thr Val Ser Ser
        115


<210>  117
<211>  354
<212>  DNA
<213>  Artificial

<220>
<223>  heavy chain variable region


<220>
<221>  CDS
<222>  (1)..(354)

<400>  117
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg        48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt        96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg       144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc       192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc       240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt       288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga ttt tgg gac tac tac ggt atg gac gtc tgg ggc caa ggg acc       336
Ala Arg Phe Trp Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

acg gtc acc gtc tca agc                                              354
Thr Val Thr Val Ser Ser
        115


<210>  118
<211>  118
<212>  PRT
<213>  Artificial
```

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 118

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Phe Trp Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 119
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(351)

<400> 119
cag gtg cag cta cag cag tgg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg 48
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt 96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg 144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

```
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc      192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

gag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc      240
Glu Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gca gac acg gcc gtg tat tac tgt      288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gat cgg tac tac ggt atg gac gtc tgg ggc caa ggg acc acg      336
Ala Arg Asp Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr
            100                 105                 110

gtc acc gtc tca agc                                                 351
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 120
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 120

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Glu Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Asp Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr
            100                 105                 110
```

```
Val Thr Val Ser Ser
        115


<210>  121
<211>  354
<212>  DNA
<213>  Artificial

<220>
<223>  heavy chain variable region


<220>
<221>  CDS
<222>  (1)..(354)

<400>  121
gag gtg cag ctg gtc gag tct ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg        48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt        96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg       144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg tac atc tat tat agt ggg agc acc tac tac aac ccg tcc ctc       192
Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc atg tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc       240
Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gca gac acg gcc gtg tat tac tgt       288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga tgg agc tac ttg gat gct ttt gat atc tgg ggc caa ggg aca       336
Ala Arg Trp Ser Tyr Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

atg gtc acc gtc tca agc                                               354
Met Val Thr Val Ser Ser
        115


<210>  122
<211>  118
<212>  PRT
<213>  Artificial

<220>
<223>  Synthetic Construct

<400>  122
```

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Trp Ser Tyr Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Met Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 123
<211> 354
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(354)

<400> 123

```
gag gtg cag ctg gtg gag tct ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg      48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                  10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg     144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc     192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60
```

```
aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc      240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt      288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gat tac gat att ttc ggt atg gac gtc tgg ggc caa ggg acc      336
Ala Arg Asp Tyr Asp Ile Phe Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

acg gtc acc gtc tca agc                                             354
Thr Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 124
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 124

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Asp Tyr Asp Ile Phe Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 125

<211> 354
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(354)

<400> 125

```
cag ctg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg        48
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt        96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg       144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc       192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag tcc tcc       240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Ser Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt       288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gcc aac aga gat gat gct ttt gat atc tgg ggc caa ggg aca       336
Ala Arg Ala Asn Arg Asp Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

atg gtc acc gtc tca agc                                              354
Met Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 126
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 126

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
```

```
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Ser Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Ala Asn Arg Asp Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Met Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 127
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(357)

<400> 127

```
gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gta cag ccg ggg ggg        48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttt agc agc tat        96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gcc atg agc tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtc       144
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

tca gct att agt ggt agt ggt ggt agc aca tac tac gca gac tcc gtg       192
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

aag ggc cgg ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat       240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
```

```
ctg caa atg aac agt ctg agc gcc gac gac acg gcc gta tat ttc tgt      288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ser Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
                85                  90                  95

gcg tcg ggt ggc tgg tac ggg gac tac ttt gac tac tgg ggc cag gga      336
Ala Ser Gly Gly Trp Tyr Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

acc ctg gtc acc gtc tca agc                                          357
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 128
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 128

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Ser Gly Gly Trp Tyr Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 129
<211> 363
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(363)

<400> 129

```
cag gtg cag ctg cag gag tcc ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gag        48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc act gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt        96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg       144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc       192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc       240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt       288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gaa ggg aac cga acg gtg act agt gct ttt gat atc tgg ggc       336
Ala Arg Glu Gly Asn Arg Thr Val Thr Ser Ala Phe Asp Ile Trp Gly
            100                 105                 110

caa ggg aca atg gtc acc gtc tca agc                                  363
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 130
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 130

```
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 Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45
```

```
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Glu Gly Asn Arg Thr Val Thr Ser Ala Phe Asp Ile Trp Gly
            100                 105                 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 131
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(357)

<400> 131

```
cag gtg cag ctg cag gag tcc ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg      48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg     144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc     192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc     240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gtg tac tac tgt     288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga ggg ctg ggg gat agt agt ggt tat atc ctt tgg ggc caa ggg     336
```

Ala Arg Gly Leu Gly Asp Ser Ser Gly Tyr Ile Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

aca atg gtc acc gtc tca agc 357
Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 132
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 132

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Leu Gly Asp Ser Ser Gly Tyr Ile Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 133
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS

<222> (1)..(357)

<400> 133

```
cag gtg cag ctg cag gag tcc ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg      48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg     144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc     192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc     240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gtg tac tac tgt     288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga ggg ctg ggg gat agt agt ggt tat atc ctt tgg ggc caa ggg     336
Ala Arg Gly Leu Gly Asp Ser Ser Gly Tyr Ile Leu Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

aca atg gtc acc gtc tca agc                                        357
Thr Met Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 134
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 134

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60
```

```
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Leu Gly Asp Ser Ser Gly Tyr Ile Leu Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 135
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(357)

<400> 135

```
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg        48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt        96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg       144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc       192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc       240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt       288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga tgg acc ggg cgt act gat gct ttt gat atc tgg ggc caa ggg       336
Ala Arg Trp Thr Gly Arg Thr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

aca atg gtc acc gtc tca agc                                           357
Thr Met Val Thr Val Ser Ser
```

115

<210> 136
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 136

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Thr Gly Arg Thr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 137
<211> 354
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(354)

<400> 137
cag gtg cag ctg cag gag tcc ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg 48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly

```
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg     144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc     192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc     240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt     288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga caa ggg gcg tta gat gct ttt gat atc tgg ggc caa ggg acc     336
Ala Arg Gln Gly Ala Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

acg gtc acc gtc tca agc                                            354
Thr Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 138
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 138

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80
```

```
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gln Gly Ala Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 139
<211> 366
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(366)

<400> 139

```
cag gtg cag ctg gtg gag tcc ggg gga ggc gtg gtc cga cct ggg ggg      48
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcg tct gga ttc acc ttt agc agc tat      96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gcc atg agc tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtc     144
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

tca act att agt ggt agt ggt ggt agc aca tac tac gca gac tcc gtg     192
Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

aag ggc cgg ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat     240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

ctg cag atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gcc gta tat tac tgt     288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aaa gag cgt ggc agt ggc tgg tcc tta gac aat atg gac gtc tgg     336
Ala Lys Glu Arg Gly Ser Gly Trp Ser Leu Asp Asn Met Asp Val Trp
            100                 105                 110

ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tca agc                             366
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 140
<211> 122

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 140

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Glu Arg Gly Ser Gly Trp Ser Leu Asp Asn Met Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 141
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(357)

<400> 141
cag gtg cag ctg gtg gag tct ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg 48
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt 96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

```
aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg      144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc      192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc      240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt      288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gat agc agt ggg ttc tac ggt atg gac gtc tgg ggc caa ggg      336
Ala Arg Asp Ser Ser Gly Phe Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

acc acg gtc acc gtc tca agc                                         357
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 142
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 142

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Asp Ser Ser Gly Phe Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
```

```
          100                 105                 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115


<210>  143
<211>  360
<212>  DNA
<213>  Artificial

<220>
<223>  heavy chain variable region


<220>
<221>  CDS
<222>  (1)..(360)

<400>  143
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg        48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt        96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg       144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc       192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc       240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg act gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt       288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga agc agc agc tgg tac tgg aat gct ttt gat atc tgg ggc caa       336
Ala Arg Ser Ser Ser Trp Tyr Trp Asn Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
            100                 105                 110

ggg aca atg gtc acc gtc tca agc                                      360
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
        115                 120


<210>  144
<211>  120
<212>  PRT
<213>  Artificial

<220>
<223>  Synthetic Construct
```

<400> 144

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Ser Ser Trp Tyr Trp Asn Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 145
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(351)

<400> 145
cag gtg cag cta cag cag tgg ggc cca gca ctg gtg aag cct tcg ggg 48
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

acc ctg tcc ctc acc tgc tct gtc tct ggt gtc tcc atc acc agt aat 96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Val Ser Ile Thr Ser Asn
20 25 30

atc tgg tgg agt tgg gtc cgc cag tcc cca ggg aag ggg ctg gag tgg 144
Ile Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

```
att ggg gaa gtc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc      192
Ile Gly Glu Val Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc      240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gct gtg tat tac tgt      288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg ggg tac cgt agc ttc ggg gag tcc tac tgg ggc cag gga acc ctg      336
Ala Gly Tyr Arg Ser Phe Gly Glu Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

gtc acc gtc tca agc                                                 351
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 146
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 146

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Val Ser Ile Thr Ser Asn
            20                  25                  30

Ile Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Val Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Gly Tyr Arg Ser Phe Gly Glu Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 147
<211> 366
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(366)

<400> 147

```
cag gtg cag cta cag cag tgg ggc gca ggg ctg ttg aag cct tcg gag        48
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1               5                  10                  15

acc ctg tct ctc acc tgc gtt gtc tat ggt ggg tcc ttc agc gat ttc        96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Val Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Asp Phe
            20                  25                  30

tac tgg agc tgg atc cgc cag ccc cca ggg aag ggg cca gag tgg att       144
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Pro Glu Trp Ile
        35                  40                  45

ggg gaa gtc aat cct aga gga agc acc aac tac aac ccg tcc ctc aag       192
Gly Glu Val Asn Pro Arg Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

agt cga gcc acc ata tca cta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg       240
Ser Arg Ala Thr Ile Ser Leu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

aag ctg agt tct gtg acc gcc gcg gac acg gct gtg tat ttc tgt gcg       288
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala
                85                  90                  95

aga ggt cct cgg ccc ggg aga gat ggc tac aat tac ttt gac aac tgg       336
Arg Gly Pro Arg Pro Gly Arg Asp Gly Tyr Asn Tyr Phe Asp Asn Trp
            100                 105                 110

ggc cag ggc acc ctg gtc acc gtc tca agc                              366
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 148
<211> 122
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 148

```
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 Val Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Asp Phe
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Pro Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Val Asn Pro Arg Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Ala Thr Ile Ser Leu 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 Phe Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Gly Pro Arg Pro Gly Arg Asp Gly Tyr Asn Tyr Phe Asp Asn Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 149
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(357)

<400> 149

```
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gag      48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc act gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg     144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc     192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc     240
```

```
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt      288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga ggt ata gca gca gct ggt caa ggt gac tac tgg ggc cag gga      336
Ala Arg Gly Ile Ala Ala Ala Gly Gln Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

acc ctg gtc acc gtc tca agc                                         357
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115


<210>  150
<211>  119
<212>  PRT
<213>  Artificial

<220>
<223>  Synthetic Construct

<400>  150

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 Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30


Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45


Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60


Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80


Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95


Ala Arg Gly Ile Ala Ala Ala Gly Gln Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110


Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115


<210>  151
<211>  363
<212>  DNA
```

<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(363)

<400> 151

```
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gag        48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc act gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt        96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

agt tac tac tgg ggc tgg atc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag       144
Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
        35                  40                  45

tgg att ggg agt atc tat tat agt ggg agc acc tac tac aac ccg tcc       192
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
    50                  55                  60

ctc aag agt cga gtc acc ata tcc gta gac acg tcc aag aac cag ttc       240
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65                  70                  75                  80

tcc ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac       288
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
                85                  90                  95

tgt gcg aga gat ggg gga tac tac tac tac ggt atg gac gtc tgg ggc       336
Cys Ala Arg Asp Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
            100                 105                 110

caa ggg acc acg gtc acc gtc tca agc                                  363
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 152
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 152

```
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 Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30
```

```
Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
        35                  40                  45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
    50                  55                  60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
                85                  90                  95

Cys Ala Arg Asp Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
            100                 105                 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 153
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(351)

<400> 153

```
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg        48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt        96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg       144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc       192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc       240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt       288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
```

85 90 95

gcg agt agt ggt tat gat gct ttt gat atc tgg ggc caa ggg acc acg 336
Ala Ser Ser Gly Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

gtc acc gtc tca agc 351
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 154
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 154

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Ser Gly Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 155
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(357)

<400> 155
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg 48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt 96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

aat tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg 144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc 192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc 240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt 288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

gca cga tac agc tat gga acg gta gga att gac tac tgg ggc cag gga 336
Ala Arg Tyr Ser Tyr Gly Thr Val Gly Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

acc ctg gtc acc gtc tca agc 357
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 156
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 156

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

```
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Tyr Ser Tyr Gly Thr Val Gly Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 157
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(351)
<223> heavy chain variable region

<400> 157

```
gag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg acg      48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr
1               5                   10                  15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc agc ttc aga agt cat      96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Arg Ser His
            20                  25                  30

ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg gtg     144
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

gca gtt ata tca tat gat gga agt aat aaa tac tat gca gac tcc gtg     192
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat     240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

ctg caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt     288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg act ata ggg ccg ggg gga ttt gac tac tgg ggc cag ggc acc ctg     336
Ala Thr Ile Gly Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
```

100 105 110

gtc acc gtc tca agc 351
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 158
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 158

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Arg Ser His
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Thr Ile Gly Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 159
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(357)

<400> 159

```
cag gtg cag ctg cag gag tcc ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gag        48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc act gtc tct ggt ggc tcc att aga aat tac        96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Asn Tyr
            20                  25                  30

tac tgg agt tgg atc cgg cag ccc cca ggg aag gga ctg gag tgg att       144
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

ggg tat att tct gac agt ggg aat acc aac tac aat ccc tcc ctc aag       192
Gly Tyr Ile Ser Asp Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

agt cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc cta       240
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

aag ctg acc tct gtg acc gcc aca gac acg gct gcg tat ttc tgt gcg       288
Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Thr Asp Thr Ala Ala Tyr Phe Cys Ala
                85                  90                  95

aga cat cga agc agc tgg gca tgg tac ttc gat ctc tgg ggc cgt ggc       336
Arg His Arg Ser Ser Trp Ala Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
            100                 105                 110

acc ctg gtc acc gtc tca agc                                          357
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 160
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 160

```
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 Gly Ser Ile Arg Asn Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Tyr Ile Ser Asp Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60
```

```
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Thr Asp Thr Ala Ala Tyr Phe Cys Ala
                85                  90                  95

Arg His Arg Ser Ser Trp Ala Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 161
<211> 354
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(354)

<400> 161

```
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gag      48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg     144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc     192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc     240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt     288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gtg ggc agt ggc tgg tac gtt gac tac tgg ggc cag gga acc     336
Ala Arg Val Gly Ser Gly Trp Tyr Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

ctg gtc acc gtc tca agc                                            354
Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 162
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 162

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 Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Val Gly Ser Gly Trp Tyr Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 163
<211> 360
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(360)

<400> 163
cag gtg cag ctg cag gag tcc ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg 48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

```
acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt        96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg       144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc       192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc       240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt       288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gtt tct ggc tac tac tac tac ggt atg gac gtc tgg ggc caa       336
Ala Arg Val Ser Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
            100                 105                 110

ggg acc acg gtc acc gtc tca agc                                       360
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 164
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 164

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
```

85 90 95

Ala Arg Val Ser Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 165
<211> 369
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(369)

<400> 165

```
gag gtc cag ctg gta cag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg        48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt agc tat        96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg gtg       144
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

gca gtt ata tca tat gat gga agt aat aaa tac tat gca gac tcc gtg       192
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat       240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

ctg caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt       288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aaa gcg tat agc agt ggc tgg tac gac tac tac ggt atg gac gtc       336
Ala Lys Ala Tyr Ser Ser Gly Trp Tyr Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
            100                 105                 110

tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tca agc                           369
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 166
<211> 123
<212> PRT

<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 166

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Lys Ala Tyr Ser Ser Gly Trp Tyr Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 167
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(351)

<400> 167

```
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg      48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30
```

```
aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg      144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc      192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc      240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt      288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gcc agc gtt gat gct ttt gat atc tgg ggc caa ggg aca atg      336
Ala Arg Ala Ser Val Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

gtc acc gtc tca agc                                                 351
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 168
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 168

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Ala Ser Val Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110
```

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 169
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(357)

<400> 169

```
cag gtg cag ctg cag gag tcc ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg        48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt        96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg       144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc       192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc       240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gtg tac tac tgt       288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga ggg ctg ggg gat agt agt ggt tat atc ctt tgg ggc caa ggg       336
Ala Arg Gly Leu Gly Asp Ser Ser Gly Tyr Ile Leu Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

aca atg gtc acc gtc tca agc                                           357
Thr Met Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 170
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 170

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Leu Gly Asp Ser Ser Gly Tyr Ile Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 171
<211> 348
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(348)

<400> 171
cag gta cag ctg cag cag tca ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg 48
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt 96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg 144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc 192

```
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc      240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg act ccc gag gac acg gct gtg tat tac tgt      288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gca aga gat cac ggc ccc ttt gac tac tgg ggc cgg gga acc ctg gtc      336
Ala Arg Asp His Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110

acc gtc tca agc                                                     348
Thr Val Ser Ser
        115


<210>  172
<211>  116
<212>  PRT
<213>  Artificial

<220>
<223>  Synthetic Construct

<400>  172

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Asp His Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110

Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 173
<211> 360
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(360)

<400> 173

```
cag gtg cag ctg gtg caa tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg        48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc gcc ttc agt agc tat        96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtt       144
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

tca tac att agt agt agt agt agt acc ata tac tac gca gac tct gtg       192
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat       240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

ctg caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt       288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gat cga ttt ggg tcg ggg cac ttg ccc gac tac tgg ggc cag       336
Ala Arg Asp Arg Phe Gly Ser Gly His Leu Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

gga acc ctg gtc acc gtc tca agc                                      360
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 174
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 174

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15
```

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Asp Arg Phe Gly Ser Gly His Leu Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 175
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(357)

<400> 175

```
cag gtg cag cta cag cag tgg ggc gca gga ctg ttg aag cct tcg gag      48
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tat ggt ggg tcc ttc agt ggt tac      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

tac tgg agc tgg atc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg att     144
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

ggg gaa atc aat cat agt gga agc acc aac tac aac ccg tcc ctc aag     192
Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

agt cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg     240
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
```

65 70 75 80

aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gct gtg tat tac tgt gcg 288
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

aga gtt ggg tat agc agt ggc cgt gac gtt gac tac tgg ggc cag ggc 336
Arg Val Gly Tyr Ser Ser Gly Arg Asp Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

acc ctg gtc acc gtc tca agc 357
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 176
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 176

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 Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val 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

Arg Val Gly Tyr Ser Ser Gly Arg Asp Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 177
<211> 360
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(360)

<400> 177
gag gtc cag ctg gtg gag tct ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg 48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt 96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

aac tgg tgg agt tgg atc cgg cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg 144
Asn Trp Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc 192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc 240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt 288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

gcg aga gat agc agc agc tgg tac tac ggt atg gac gtc tgg ggc caa 336
Ala Arg Asp Ser Ser Ser Trp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

ggg acc acg gtc acc gtc tca agc 360
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 178
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 178

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

```
Asn Trp Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Asp Ser Ser Ser Trp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 179
<211> 348
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(348)

<400> 179

```
gag gtc cag ctg gtg gag tcc ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gag      48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg     144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc     192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc     240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gta tat tat tgt     288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

```
gcg aga tcg acg tgg tcc ctt gac tac tgg ggc cag ggc acc ctg gtc      336
Ala Arg Ser Thr Trp Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110

acc gtc tca agc                                                      348
Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 180
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 180

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Ser Thr Trp Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110

Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 181
<211> 354
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(354)

<400> 181
gag gtc cag ctg gtg gag tct ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg 48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt 96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg 144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc 192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc 240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gta tat tac tgt 288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

gcg aga ctc tcg ttt gcc gat cct ttt gat atc tgg ggc caa ggg aca 336
Ala Arg Leu Ser Phe Ala Asp Pro Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

atg gtc acc gtc tca agc 354
Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 182
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 182

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu

```
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Leu Ser Phe Ala Asp Pro Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Met Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 183
<211> 366
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(366)

<400> 183

```
cag gtc cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg tcc      48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1               5                   10                  15

tcg gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga ggc acc ttc agc agc tat      96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gct atc agc tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt gag tgg atg     144
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

gga agg atc atc ccc atc ctt ggt ata gca aac tac gca cag aag ttc     192
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

cag ggc aga gtc acg att acc gcg gac aaa tcc acg agc aca gcc tac     240
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

atg gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt     288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gca tat ggt tcg ggg agt tat tac gac tac tac tac atg gac gtc tgg     336
Ala Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Tyr Met Asp Val Trp
            100                 105                 110
```

ggc aaa ggg acc acg gtc acc gtc tca agc 366
Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 184
<211> 122
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 184

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Tyr Met Asp Val Trp
100 105 110

Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 185
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(357)

<400> 185

```
gag gtc cag ctg gtg cag tct ggg gga ggc ttg gtc cag cct ggg ggg        48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

tcc ctg aga ctc tcc tgt tca gcc tcc gga ttc acc ttc agt agc tat        96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gct atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag gga ctg gaa tat gtt       144
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
        35                  40                  45

tca act att agt agt aat ggg gat agc aca tac tac gca gac tcc gtg       192
Ser Thr Ile Ser Ser Asn Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

aag ggc aga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat       240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

ctg caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt       288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aaa gaa gaa gta tgg cta cag gct ttt gat atc tgg ggc caa ggg       336
Ala Lys Glu Glu Val Trp Leu Gln Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

aca atg gtc acc gtc tca agc                                          357
Thr Met Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 186
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 186

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
        35                  40                  45

Ser Thr Ile Ser Ser Asn Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Lys Glu Glu Val Trp Leu Gln Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 187
<211> 345
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(345)

<400> 187

```
cag ctg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gag      48
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc act gtc tct ggt ggc tcc atc agt agt aac      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn
            20                  25                  30

tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg att     144
Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccc tcc ctc aag     192
Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

agt cga gtc acc atc tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg     240
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt gcg     288
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

aga gat aag gga tac atg gac gtc tgg ggc aaa ggg acc acg gtc acc     336
Arg Asp Lys Gly Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr
            100                 105                 110

gtc tca agc                                                        345
Val Ser Ser
        115
```

<210> 188
<211> 115
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 188

Gln Leu 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 Gly Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30

Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val 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

Arg Asp Lys Gly Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 189
<211> 363
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(363)

<400> 189
cag gta cag ctg cag cag tca ggg gct gag gtg aag aag cct ggg tcc 48
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

tcg gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga ggc acc ttc agc agc tat 96

```
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gct atc agc tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt gag tgg atg      144
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

gga agg atc atc cct atc ctt ggt ata gca aac tag gca cag aag ttc      192
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

cag ggc aga gtc acg att acc gcg gac aaa tcc acg agc aca gcc tac      240
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

atg gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt      288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gat cat agg ttc gac tac gcc tgg tac ttc gat ctc tgg ggc      336
Ala Arg Asp His Arg Phe Asp Tyr Ala Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
            100                 105                 110

cgt ggc acc ctg gtc acc gtc tca agc                                  363
Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 190
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 190

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

```
Ala Arg Asp His Arg Phe Asp Tyr Ala Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
            100                 105                 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 191
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(351)

<400> 191

```
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg ctg aag cct tcg ggg      48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Leu Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agc      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg gag ggg ctg gag tgg     144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc     192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc     240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtc tat tac tgt     288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gat cta acg ggg agt ctt gac tac tgg ggc cag gga acc ctg     336
Ala Arg Asp Leu Thr Gly Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

gtc acc gtc tca agc                                                 351
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 192
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 192

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Thr Gly Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 193
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(351)

<400> 193
cag gtg cag ctg cag gag tcc ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg 48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt 96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg 144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

```
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc      192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc      240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt      288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga ata cgc tat gat gct ttt gat atc tgg ggc caa ggg aca atg      336
Ala Arg Ile Arg Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

gtc acc gtc tca agc                                                 351
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 194
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 194

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Ile Arg Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110
```

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 195
<211> 354
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(354)

<400> 195

```
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gag      48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1               5                  10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg     144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc     192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc     240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt     288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcc gtg acg gca gcc cat gat gct ttt gat atc tgg ggc caa ggg aca     336
Ala Val Thr Ala Ala His Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

atg gtc acc gtc tca agc                                             354
Met Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 196
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 196

```
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 Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Val Thr Ala Ala His Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Met Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 197
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(357)

<400> 197

```
cag gtg cag cta cag cag tgg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg      48
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                  10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg     144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc     192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60
```

```
aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc      240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt      288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gac agc agt ggc caa ggg tac ttt gac tac tgg ggc cag ggc      336
Ala Arg Asp Ser Ser Gly Gln Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

acc ctg gtc acc gtc tca agc                                          357
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 198
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 198

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Asp Ser Ser Gly Gln Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 199

<211> 354
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(354)

<400> 199

```
gag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc        48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

tca gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga tac acc ttc act agc tat        96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

gct atg cat tgg gtg cgc cag gcc ccc gga caa agg ctt gag tgg atg       144
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

gga tgg atc aac gct ggc aat ggt aac aca aaa tat tca cag aag ttc       192
Gly Trp Ile Asn Ala Gly Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Gln Lys Phe
    50                  55                  60

cag ggc aga gtc acc atg acc agg gac acg tcc acg agc aca gtc tac       240
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

atg gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt       288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gct aga cac tcg tac tac tac ggt atg gac gtc tgg ggc caa ggc acc       336
Ala Arg His Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

ctg gtc acc gtc tca agc                                              354
Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 200
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 200

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

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

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg His Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 201
<211> 360
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(360)

<400> 201

```
cag gtg cag cta cag cag tgg ggc gca gga ctg ttg aag cct tcg gag      48
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1               5                  10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tat ggt ggg tcc ttc agt ggt tac      96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

tac tgg agc tgg atc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg att     144
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

ggg gaa atc aat cat agt gga agc acc aac tac aac ccg tcc ctc aag     192
Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

agt cga gtc acc ata tcg gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg     240
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80
```

```
aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gct gtg tat tac tgt gcg      288
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

aga gtc ggg tat agc cac ggc gaa gaa gtc ctg gac gtc tgg ggc aaa      336
Arg Val Gly Tyr Ser His Gly Glu Glu Val Leu Asp Val Trp Gly Lys
            100                 105                 110

ggg acc acg gtc acc gtc tca agc                                     360
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 202
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 202

```
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 Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val 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

Arg Val Gly Tyr Ser His Gly Glu Glu Val Leu Asp Val Trp Gly Lys
            100                 105                 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 203
<211> 354
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(354)

<400> 203

```
cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gag        48
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc act gtc tct ggt ggc tcc atc ggc aat tat        96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Gly Asn Tyr
            20                  25                  30

gac tgg agt tgg atc cgg cag ccc cca ggg aag gga ctg gag tgg att       144
Asp Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

ggg act atc tac tct agt ggg agt acg tac tac agt ccg tcc ctc aag       192
Gly Thr Ile Tyr Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

agt cga ctc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cgg ttc tcc ctg       240
Ser Arg Leu Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Arg Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt gcg       288
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

aga gca cga ggg tat agc agc ccc ttc gac ccc tgg ggc cag ggg acc       336
Arg Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Pro Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

ctg gtc acc gtc tca agc                                              354
Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 204
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 204

```
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 Gly Ser Ile Gly Asn Tyr
            20                  25                  30

Asp Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
```

```
Gly Thr Ile Tyr Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Arg 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

Arg Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Pro Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 205
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(357)

<400> 205

```
cag gtc cag ctg gta cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg tcc       48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1               5                   10                  15

tcg gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga ggc acc ttc agc agc tat       96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gct atc agc tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt gag tgg atg      144
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

gga ata atc aac cct agt ggt ggt agc aca agc tac gca cag aag ttc      192
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

cag ggc aga gtc acc att acc agg gac aca tcc gcg agc aca gcc tac      240
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

atg gag ctg agc agc ctg aga tct gaa gac acg gct gtg tat tac tgt      288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gat cgg tgg agg tac gat gct ttt gat atc tgg ggc caa ggg      336
```

Ala Arg Asp Arg Trp Arg Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

aca atg gtc acc gtc tca agc 357
Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 206
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 206

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Arg Trp Arg Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 207
<211> 348
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain variable region

<220>
<221> CDS

<222> (1)..(348)

<400> 207

```
gag gtg cag ctg gtg gag tct ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg ggg          48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15

acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt          96
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

aac tgg tgg agt tgg gtc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg         144
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

att ggg gaa atc tat cat agt ggg agc acc aac tac aac ccg tcc ctc         192
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

aag agt cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttg tcc         240
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt         288
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga gaa aaa tcg ggt atg gac gtc tgg ggc caa ggg acc acg gtc         336
Ala Arg Glu Lys Ser Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
            100                 105                 110

acc gtc tca agc                                                        348
Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 208
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 208

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60
```

```
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Glu Lys Ser Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
            100                 105                 110

Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 209
<211> 321
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> light chain constant region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(321)

<400> 209

```
cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag        48
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1               5                   10                  15

cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc        96
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
            20                  25                  30

tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa       144
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
        35                  40                  45

tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc       192
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
    50                  55                  60

acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag       240
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65                  70                  75                  80

aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg       288
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
                85                  90                  95

ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt                           321
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            100                 105
```

<210> 210

<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 210

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 211
<211> 990
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain constant region

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(990)

<400> 211
gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

```
                35                  40                  45

ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc      192
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc      240
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag      288
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc      336
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca      384
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc acg tgc      432
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg      480
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag      528
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg      576
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac      624
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg      672
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag      720
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225                 230                 235                 240

ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat      768
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac      816
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc      864
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285
```

```
gtc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac      912
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg      960
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa                          990
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                325                 330
```

<210> 212
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 212

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
```

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 213
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Light chain CDR3

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(8)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 213

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Xaa Thr
1 5

<210> 214
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Light chain CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> x is arginine or serine

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is asparagine or serine

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> x is serine or asparagine

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> x is glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, phenylalinine, methionine, tryptophan or cysteine

<400> 214

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Leu Thr
1 5

<210> 215
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Light chain CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(9)
<223> x is arginine, valine, or isoleucine or no amino acid

<400> 215

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn Xaa Xaa Val
1 5 10

<210> 216
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Heavy chain CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(8)

<400> 216

Ser Arg Leu Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 217
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Heavy chain CDR3

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 217

Ser Xaa Tyr Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 218
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Heavy chain CDR3

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 218

His Arg Xaa Asp Xaa Ala Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 219
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Heavy chain CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(4)

<400> 219

Asp Ser Ser Gly
1

<210> 220
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Light chain CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(16)

<400> 220

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 221
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Light chain CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> x is glycine or serine

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> x is isoleucine or valine

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> x is glycine or serine

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> x is any amino acid

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> x is tyrosine or phenyalanine

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (11)..(11)
<223> x is alanine or asparagine

<400> 221

Arg Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa
1 5 10

<210> 222
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Light chain CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> Xaa is leucine or serine

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(11)
<223> x is independently any amino acid

<400> 222

Arg Ser Ser Gln Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 223
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Light chain CDR2

<400> 223

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

<210> 224
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Light chain CDR2

<400> 224

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 225
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Light chain CDR2

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 225

Glu Asp Asn Xaa Arg Pro Ser
1 5

<210> 226
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Heavy chain CDR1

<400> 226

Ser Ser Asn Trp Trp Ser
1 5

<210> 227
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Heavy chain CDR1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 227

Xaa Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 228
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Heavy chain CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> x is serine or histidine

<400> 228

Ser Tyr Ala Met Xaa
1 5

<210> 229
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Heavy chain CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = glutamic acid or isoleucine

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa = isoleucine or valine

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa = tyrosine or asparagine

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa = histidine or tyrosine

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> Xaa = asparagine or tyrosine

<400> 229

Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Gly Ser Thr Xaa Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 230
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Heavy chain CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = any amino acid

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa = glycine or serine

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa = glycine or serine

<400> 230

Xaa Ile Ser Xaa Ser Gly Xaa Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 231
<211> 1162
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> huIGF-1R:Fc

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1162)

<400> 231

Met Lys Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser Pro Thr Ser Leu Trp Gly Leu
1 5 10 15

Leu Phe Leu Ser Ala Ala Leu Ser Leu Trp Pro Thr Ser Gly Glu Ile
20 25 30

Cys Gly Pro Gly Ile Asp Ile Arg Asn Asp Tyr Gln Gln Leu Lys Arg
35 40 45

Leu Glu Asn Cys Thr Val Ile Glu Gly Tyr Leu His Ile Leu Leu Ile
50 55 60

Ser Lys Ala Glu Asp Tyr Arg Ser Tyr Arg Phe Pro Lys Leu Thr Val
65 70 75 80

Ile Thr Glu Tyr Leu Leu Leu Phe Arg Val Ala Gly Leu Glu Ser Leu
85 90 95

Gly Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr Val Ile Arg Gly Trp Lys Leu Phe
100 105 110

Tyr Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe Glu Met Thr Asn Leu Lys Asp Ile
115 120 125

Gly Leu Tyr Asn Leu Arg Asn Ile Thr Arg Gly Ala Ile Arg Ile Glu
130 135 140

Lys Asn Ala Asp Leu Cys Tyr Leu Ser Thr Val Asp Trp Ser Leu Ile
145 150 155 160

Leu Asp Ala Val Ser Asn Asn Tyr Ile Val Gly Asn Lys Pro Pro Lys
165 170 175

Glu Cys Gly Asp Leu Cys Pro Gly Thr Met Glu Glu Lys Pro Met Cys
180 185 190

Glu Lys Thr Thr Ile Asn Asn Glu Tyr Asn Tyr Arg Cys Trp Thr Thr
195 200 205

Asn Arg Cys Gln Lys Met Cys Pro Ser Thr Cys Gly Lys Arg Ala Cys
210 215 220

Thr Glu Asn Asn Glu Cys Cys His Pro Glu Cys Leu Gly Ser Cys Ser
225 230 235 240

Ala Pro Asp Asn Asp Thr Ala Cys Val Ala Cys Arg His Tyr Tyr Tyr
245 250 255

```
Ala Gly Val Cys Val Pro Ala Cys Pro Pro Asn Thr Tyr Arg Phe Glu
            260                 265                 270

Gly Trp Arg Cys Val Asp Arg Asp Phe Cys Ala Asn Ile Leu Ser Ala
        275                 280                 285

Glu Ser Ser Asp Ser Glu Gly Phe Val Ile His Asp Gly Glu Cys Met
    290                 295                 300

Gln Glu Cys Pro Ser Gly Phe Ile Arg Asn Gly Ser Gln Ser Met Tyr
305                 310                 315                 320

Cys Ile Pro Cys Glu Gly Pro Cys Pro Lys Val Cys Glu Glu Glu Lys
                325                 330                 335

Lys Thr Lys Thr Ile Asp Ser Val Thr Ser Ala Gln Met Leu Gln Gly
            340                 345                 350

Cys Thr Ile Phe Lys Gly Asn Leu Leu Ile Asn Ile Arg Arg Gly Asn
        355                 360                 365

Asn Ile Ala Ser Glu Leu Glu Asn Phe Met Gly Leu Ile Glu Val Val
    370                 375                 380

Thr Gly Tyr Val Lys Ile Arg His Ser His Ala Leu Val Ser Leu Ser
385                 390                 395                 400

Phe Leu Lys Asn Leu Arg Leu Ile Leu Gly Glu Glu Gln Leu Glu Gly
                405                 410                 415

Asn Tyr Ser Phe Tyr Val Leu Asp Asn Gln Asn Leu Gln Gln Leu Trp
            420                 425                 430

Asp Trp Asp His Arg Asn Leu Thr Ile Lys Ala Gly Lys Met Tyr Phe
        435                 440                 445

Ala Phe Asn Pro Lys Leu Cys Val Ser Glu Ile Tyr Arg Met Glu Glu
    450                 455                 460

Val Thr Gly Thr Lys Gly Arg Gln Ser Lys Gly Asp Ile Asn Thr Arg
465                 470                 475                 480

Asn Asn Gly Glu Arg Ala Ser Cys Glu Ser Asp Val Leu His Phe Thr
                485                 490                 495
```

Ser Thr Thr Thr Ser Lys Asn Arg Ile Ile Ile Thr Trp His Arg Tyr
500 505 510

Arg Pro Pro Asp Tyr Arg Asp Leu Ile Ser Phe Thr Val Tyr Tyr Lys
515 520 525

Glu Ala Pro Phe Lys Asn Val Thr Glu Tyr Asp Gly Gln Asp Ala Cys
530 535 540

Gly Ser Asn Ser Trp Asn Met Val Asp Val Asp Leu Pro Pro Asn Lys
545 550 555 560

Asp Val Glu Pro Gly Ile Leu Leu His Gly Leu Lys Pro Trp Thr Gln
565 570 575

Tyr Ala Val Tyr Val Lys Ala Val Thr Leu Thr Met Val Glu Asn Asp
580 585 590

His Ile Arg Gly Ala Lys Ser Glu Ile Leu Tyr Ile Arg Thr Asn Ala
595 600 605

Ser Val Pro Ser Ile Pro Leu Asp Val Leu Ser Ala Ser Asn Ser Ser
610 615 620

Ser Gln Leu Ile Val Lys Trp Asn Pro Pro Ser Leu Pro Asn Gly Asn
625 630 635 640

Leu Ser Tyr Tyr Ile Val Arg Trp Gln Arg Gln Pro Gln Asp Gly Tyr
645 650 655

Leu Tyr Arg His Asn Tyr Cys Ser Lys Asp Lys Ile Pro Ile Arg Lys
660 665 670

Tyr Ala Asp Gly Thr Ile Asp Ile Glu Glu Val Thr Glu Asn Pro Lys
675 680 685

Thr Glu Val Cys Gly Gly Glu Lys Gly Pro Cys Cys Ala Cys Pro Lys
690 695 700

Thr Glu Ala Glu Lys Gln Ala Glu Lys Glu Glu Ala Glu Tyr Arg Lys
705 710 715 720

Val Phe Glu Asn Phe Leu His Asn Ser Ile Phe Val Pro Arg Pro Glu
725 730 735

Arg Lys Arg Arg Asp Val Met Gln Val Ala Asn Thr Thr Met Ser Ser

740 745 750

Arg Ser Arg Asn Thr Thr Ala Ala Asp Thr Tyr Asn Ile Thr Asp Pro
755 760 765

Glu Glu Leu Glu Thr Glu Tyr Pro Phe Phe Glu Ser Arg Val Asp Asn
770 775 780

Lys Glu Arg Thr Val Ile Ser Asn Leu Arg Pro Phe Thr Leu Tyr Arg
785 790 795 800

Ile Asp Ile His Ser Cys Asn His Glu Ala Glu Lys Leu Gly Cys Ser
805 810 815

Ala Ser Asn Phe Val Phe Ala Arg Thr Met Pro Ala Glu Gly Ala Asp
820 825 830

Asp Ile Pro Gly Pro Val Thr Trp Glu Pro Arg Pro Glu Asn Ser Ile
835 840 845

Phe Leu Lys Trp Pro Glu Pro Glu Asn Pro Asn Gly Leu Ile Leu Met
850 855 860

Tyr Glu Ile Lys Tyr Gly Ser Gln Val Glu Asp Gln Arg Glu Cys Val
865 870 875 880

Ser Arg Gln Glu Tyr Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Lys Leu Asn Arg Leu
885 890 895

Asn Pro Gly Asn Tyr Thr Ala Arg Ile Gln Ala Thr Ser Leu Ser Gly
900 905 910

Asn Gly Ser Trp Thr Asp Pro Val Phe Phe Tyr Val Gln Ala Lys Thr
915 920 925

Gly Tyr Glu Asn Phe Ile His Leu Asp Glu Val Asp Gly Cys Lys Pro
930 935 940

Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
945 950 955 960

Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys
965 970 975

Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp
980 985 990

```
Phe Val Asp Asp Val Glu Val His  Thr Ala Gln Thr Gln  Pro Arg Glu
       995                 1000                 1005

Glu Gln  Phe Asn Ser Thr Phe  Arg Ser Val Ser Glu  Leu Pro Ile
    1010                1015                1020

Met His  Gln Asp Trp Leu Asn  Gly Lys Glu Phe Lys  Cys Arg Val
    1025                1030                1035

Asn Ser  Ala Ala Phe Pro Ala  Pro Ile Glu Lys Thr  Ile Ser Lys
    1040                1045                1050

Thr Lys  Gly Arg Pro Lys Ala  Pro Gln Val Tyr Thr  Ile Pro Pro
    1055                1060                1065

Pro Lys  Glu Gln Met Ala Lys  Asp Lys Val Ser Leu  Thr Cys Met
    1070                1075                1080

Ile Thr  Asp Phe Phe Pro Glu  Asp Ile Thr Val Glu  Trp Gln Trp
    1085                1090                1095

Asn Gly  Gln Pro Ala Glu Asn  Tyr Lys Asn Thr Gln  Pro Ile Met
    1100                1105                1110

Asp Thr  Asp Gly Ser Tyr Phe  Val Tyr Ser Lys Leu  Asn Val Gln
    1115                1120                1125

Lys Ser  Asn Trp Glu Ala Gly  Asn Thr Phe Thr Cys  Ser Val Leu
    1130                1135                1140

His Glu  Gly Leu His Asn His  His Thr Glu Lys Ser  Leu Ser His
    1145                1150                1155

Ser Pro  Gly Lys
    1160
```

<210> 232
<211> 1180
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> hu INSR:fC

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1180)

<400> 232

```
Met Gly Thr Gly Gly Arg Arg Gly Ala Ala Ala Ala Pro Leu Leu Val
1               5                  10                  15

Ala Val Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ala Ala Gly His Leu Tyr Pro Gly
            20                  25                  30

Glu Val Cys Pro Gly Met Asp Ile Arg Asn Asn Leu Thr Arg Leu His
        35                  40                  45

Glu Leu Glu Asn Cys Ser Val Ile Glu Gly His Leu Gln Ile Leu Leu
    50                  55                  60

Met Phe Lys Thr Arg Pro Glu Asp Phe Arg Asp Leu Ser Phe Pro Lys
65                  70                  75                  80

Leu Ile Met Ile Thr Asp Tyr Leu Leu Leu Phe Arg Val Tyr Gly Leu
                85                  90                  95

Glu Ser Leu Lys Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr Val Ile Arg Gly Ser
            100                 105                 110

Arg Leu Phe Phe Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe Glu Met Val His Leu
        115                 120                 125

Lys Glu Leu Gly Leu Tyr Asn Leu Met Asn Ile Thr Arg Gly Ser Val
    130                 135                 140

Arg Ile Glu Lys Asn Asn Glu Leu Cys Tyr Leu Ala Thr Ile Asp Trp
145                 150                 155                 160

Ser Arg Ile Leu Asp Ser Val Glu Asp Asn His Ile Val Leu Asn Lys
                165                 170                 175

Asp Asp Asn Glu Glu Cys Gly Asp Ile Cys Pro Gly Thr Ala Lys Gly
            180                 185                 190

Lys Thr Asn Cys Pro Ala Thr Val Ile Asn Gly Gln Phe Val Glu Arg
        195                 200                 205

Cys Trp Thr His Ser His Cys Gln Lys Val Cys Pro Thr Ile Cys Lys
    210                 215                 220

Ser His Gly Cys Thr Ala Glu Gly Leu Cys Cys His Ser Glu Cys Leu
```

225 230 235 240

Gly Asn Cys Ser Gln Pro Asp Asp Pro Thr Lys Cys Val Ala Cys Arg
245 250 255

Asn Phe Tyr Leu Asp Gly Arg Cys Val Glu Thr Cys Pro Pro Pro Tyr
260 265 270

Tyr His Phe Gln Asp Trp Arg Cys Val Asn Phe Ser Phe Cys Gln Asp
275 280 285

Leu His His Lys Cys Lys Asn Ser Arg Arg Gln Gly Cys His Gln Tyr
290 295 300

Val Ile His Asn Asn Lys Cys Ile Pro Glu Cys Pro Ser Gly Tyr Thr
305 310 315 320

Met Asn Ser Ser Asn Leu Leu Cys Thr Pro Cys Leu Gly Pro Cys Pro
325 330 335

Lys Val Cys His Leu Leu Glu Gly Glu Lys Thr Ile Asp Ser Val Thr
340 345 350

Ser Ala Gln Glu Leu Arg Gly Cys Thr Val Ile Asn Gly Ser Leu Ile
355 360 365

Ile Asn Ile Arg Gly Gly Asn Asn Leu Ala Ala Glu Leu Glu Ala Asn
370 375 380

Leu Gly Leu Ile Glu Glu Ile Ser Gly Tyr Leu Lys Ile Arg Arg Ser
385 390 395 400

Tyr Ala Leu Val Ser Leu Ser Phe Phe Arg Lys Leu Arg Leu Ile Arg
405 410 415

Gly Glu Thr Leu Glu Ile Gly Asn Tyr Ser Phe Tyr Ala Leu Asp Asn
420 425 430

Gln Asn Leu Arg Gln Leu Trp Asp Trp Ser Lys His Asn Leu Thr Thr
435 440 445

Thr Gln Gly Lys Leu Phe Phe His Tyr Asn Pro Lys Leu Cys Leu Ser
450 455 460

Glu Ile His Lys Met Glu Glu Val Ser Gly Thr Lys Gly Arg Gln Glu
465 470 475 480

Arg Asn Asp Ile Ala Leu Lys Thr Asn Gly Asp Lys Ala Ser Cys Glu
485 490 495

Asn Glu Leu Leu Lys Phe Ser Tyr Ile Arg Thr Ser Phe Asp Lys Ile
500 505 510

Leu Leu Arg Trp Glu Pro Tyr Trp Pro Pro Asp Phe Arg Asp Leu Leu
515 520 525

Gly Phe Met Leu Phe Tyr Lys Glu Ala Pro Tyr Gln Asn Val Thr Glu
530 535 540

Phe Asp Gly Gln Asp Ala Cys Gly Ser Asn Ser Trp Thr Val Val Asp
545 550 555 560

Ile Asp Pro Pro Leu Arg Ser Asn Asp Pro Lys Ser Gln Asn His Pro
565 570 575

Gly Trp Leu Met Arg Gly Leu Lys Pro Trp Thr Gln Tyr Ala Ile Phe
580 585 590

Val Lys Thr Leu Val Thr Phe Ser Asp Glu Arg Arg Thr Tyr Gly Ala
595 600 605

Lys Ser Asp Ile Ile Tyr Val Gln Thr Asp Ala Thr Asn Pro Ser Val
610 615 620

Pro Leu Asp Pro Ile Ser Val Ser Asn Ser Ser Ser Gln Ile Ile Leu
625 630 635 640

Lys Trp Lys Pro Pro Ser Asp Pro Asn Gly Asn Ile Thr His Tyr Leu
645 650 655

Val Phe Trp Glu Arg Gln Ala Glu Asp Ser Glu Leu Phe Glu Leu Asp
660 665 670

Tyr Cys Leu Lys Gly Leu Lys Leu Pro Ser Arg Thr Trp Ser Pro Pro
675 680 685

Phe Glu Ser Glu Asp Ser Gln Lys His Asn Gln Ser Glu Tyr Glu Asp
690 695 700

Ser Ala Gly Glu Cys Cys Ser Cys Pro Lys Thr Asp Ser Gln Ile Leu
705 710 715 720

Lys Glu Leu Glu Glu Ser Ser Phe Arg Lys Thr Phe Glu Asp Tyr Leu
725 730 735

His Asn Val Val Phe Val Pro Arg Lys Thr Ser Ser Gly Thr Gly Ala
740 745 750

Glu Asp Pro Arg Pro Ser Arg Lys Arg Arg Ser Leu Gly Asp Val Gly
755 760 765

Asn Val Thr Val Ala Val Pro Thr Val Ala Ala Phe Pro Asn Thr Ser
770 775 780

Ser Thr Ser Val Pro Thr Ser Pro Glu Glu His Arg Pro Phe Glu Lys
785 790 795 800

Val Val Asn Lys Glu Ser Leu Val Ile Ser Gly Leu Arg His Phe Thr
805 810 815

Gly Tyr Arg Ile Glu Leu Gln Ala Cys Asn Gln Asp Thr Pro Glu Glu
820 825 830

Arg Cys Ser Val Ala Ala Tyr Val Ser Ala Arg Thr Met Pro Glu Ala
835 840 845

Lys Ala Asp Asp Ile Val Gly Pro Val Thr His Glu Ile Phe Glu Asn
850 855 860

Asn Val Val His Leu Met Trp Gln Glu Pro Lys Glu Pro Asn Gly Leu
865 870 875 880

Ile Val Leu Tyr Glu Val Ser Tyr Arg Arg Tyr Gly Asp Glu Glu Leu
885 890 895

His Leu Cys Val Ser Arg Lys His Phe Ala Leu Glu Arg Gly Cys Arg
900 905 910

Leu Arg Gly Leu Ser Pro Gly Asn Tyr Ser Val Arg Ile Arg Ala Thr
915 920 925

Ser Leu Ala Gly Asn Gly Ser Trp Thr Glu Pro Thr Tyr Phe Tyr Val
930 935 940

Thr Asp Tyr Leu Asp Val Pro Ser Asn Ile Ala Lys Val Asp Gly Cys
945 950 955 960

```
Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe
                965                 970                 975

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
            980                 985                 990

Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser  Lys Asp Asp Pro Glu  Val Gln Phe
        995                 1000                1005

Ser Trp  Phe Val Asp Asp Val  Glu Val His Thr Ala  Gln Thr Gln
    1010                1015                1020

Pro Arg  Glu Glu Gln Phe Asn  Ser Thr Phe Arg Ser  Val Ser Glu
    1025                1030                1035

Leu Pro  Ile Met His Gln Asp  Trp Leu Asn Gly Lys  Glu Phe Lys
    1040                1045                1050

Cys Arg  Val Asn Ser Ala Ala  Phe Pro Ala Pro Ile  Glu Lys Thr
    1055                1060                1065

Ile Ser  Lys Thr Lys Gly Arg  Pro Lys Ala Pro Gln  Val Tyr Thr
    1070                1075                1080

Ile Pro  Pro Pro Lys Glu Gln  Met Ala Lys Asp Lys  Val Ser Leu
    1085                1090                1095

Thr Cys  Met Ile Thr Asp Phe  Phe Pro Glu Asp Ile  Thr Val Glu
    1100                1105                1110

Trp Gln  Trp Asn Gly Gln Pro  Ala Glu Asn Tyr Lys  Asn Thr Gln
    1115                1120                1125

Pro Ile  Met Asp Thr Asp Gly  Ser Tyr Phe Val Tyr  Ser Lys Leu
    1130                1135                1140

Asn Val  Gln Lys Ser Asn Trp  Glu Ala Gly Asn Thr  Phe Thr Cys
    1145                1150                1155

Ser Val  Leu His Glu Gly Leu  His Asn His His Thr  Glu Lys Ser
    1160                1165                1170

Leu Ser  His Ser Pro Gly Lys
    1175                1180
```

<210> 233

<211> 1062
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> hu IGF-1R:avidin

<400> 233

Met Lys Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser Pro Thr Ser Leu Trp Gly Leu
1 5 10 15

Leu Phe Leu Ser Ala Ala Leu Ser Leu Trp Pro Thr Ser Gly Glu Ile
20 25 30

Cys Gly Pro Gly Ile Asp Ile Arg Asn Asp Tyr Gln Gln Leu Lys Arg
35 40 45

Leu Glu Asn Cys Thr Val Ile Glu Gly Tyr Leu His Ile Leu Leu Ile
50 55 60

Ser Lys Ala Glu Asp Tyr Arg Ser Tyr Arg Phe Pro Lys Leu Thr Val
65 70 75 80

Ile Thr Glu Tyr Leu Leu Leu Phe Arg Val Ala Gly Leu Glu Ser Leu
85 90 95

Gly Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr Val Ile Arg Gly Trp Lys Leu Phe
100 105 110

Tyr Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe Glu Met Thr Asn Leu Lys Asp Ile
115 120 125

Gly Leu Tyr Asn Leu Arg Asn Ile Thr Arg Gly Ala Ile Arg Ile Glu
130 135 140

Lys Asn Ala Asp Leu Cys Tyr Leu Ser Thr Val Asp Trp Ser Leu Ile
145 150 155 160

Leu Asp Ala Val Ser Asn Asn Tyr Ile Val Gly Asn Lys Pro Pro Lys
165 170 175

Glu Cys Gly Asp Leu Cys Pro Gly Thr Met Glu Glu Lys Pro Met Cys
180 185 190

Glu Lys Thr Thr Ile Asn Asn Glu Tyr Asn Tyr Arg Cys Trp Thr Thr
195 200 205

Asn Arg Cys Gln Lys Met Cys Pro Ser Thr Cys Gly Lys Arg Ala Cys
210 215 220

Thr Glu Asn Asn Glu Cys Cys His Pro Glu Cys Leu Gly Ser Cys Ser
225 230 235 240

Ala Pro Asp Asn Asp Thr Ala Cys Val Ala Cys Arg His Tyr Tyr Tyr
245 250 255

Ala Gly Val Cys Val Pro Ala Cys Pro Pro Asn Thr Tyr Arg Phe Glu
260 265 270

Gly Trp Arg Cys Val Asp Arg Asp Phe Cys Ala Asn Ile Leu Ser Ala
275 280 285

Glu Ser Ser Asp Ser Glu Gly Phe Val Ile His Asp Gly Glu Cys Met
290 295 300

Gln Glu Cys Pro Ser Gly Phe Ile Arg Asn Gly Ser Gln Ser Met Tyr
305 310 315 320

Cys Ile Pro Cys Glu Gly Pro Cys Pro Lys Val Cys Glu Glu Glu Lys
325 330 335

Lys Thr Lys Thr Ile Asp Ser Val Thr Ser Ala Gln Met Leu Gln Gly
340 345 350

Cys Thr Ile Phe Lys Gly Asn Leu Leu Ile Asn Ile Arg Arg Gly Asn
355 360 365

Asn Ile Ala Ser Glu Leu Glu Asn Phe Met Gly Leu Ile Glu Val Val
370 375 380

Thr Gly Tyr Val Lys Ile Arg His Ser His Ala Leu Val Ser Leu Ser
385 390 395 400

Phe Leu Lys Asn Leu Arg Leu Ile Leu Gly Glu Glu Gln Leu Glu Gly
405 410 415

Asn Tyr Ser Phe Tyr Val Leu Asp Asn Gln Asn Leu Gln Gln Leu Trp
420 425 430

Asp Trp Asp His Arg Asn Leu Thr Ile Lys Ala Gly Lys Met Tyr Phe
435 440 445

Ala Phe Asn Pro Lys Leu Cys Val Ser Glu Ile Tyr Arg Met Glu Glu

450 455 460

Val Thr Gly Thr Lys Gly Arg Gln Ser Lys Gly Asp Ile Asn Thr Arg
465 470 475 480

Asn Asn Gly Glu Arg Ala Ser Cys Glu Ser Asp Val Leu His Phe Thr
485 490 495

Ser Thr Thr Thr Ser Lys Asn Arg Ile Ile Ile Thr Trp His Arg Tyr
500 505 510

Arg Pro Pro Asp Tyr Arg Asp Leu Ile Ser Phe Thr Val Tyr Tyr Lys
515 520 525

Glu Ala Pro Phe Lys Asn Val Thr Glu Tyr Asp Gly Gln Asp Ala Cys
530 535 540

Gly Ser Asn Ser Trp Asn Met Val Asp Val Asp Leu Pro Pro Asn Lys
545 550 555 560

Asp Val Glu Pro Gly Ile Leu Leu His Gly Leu Lys Pro Trp Thr Gln
565 570 575

Tyr Ala Val Tyr Val Lys Ala Val Thr Leu Thr Met Val Glu Asn Asp
580 585 590

His Ile Arg Gly Ala Lys Ser Glu Ile Leu Tyr Ile Arg Thr Asn Ala
595 600 605

Ser Val Pro Ser Ile Pro Leu Asp Val Leu Ser Ala Ser Asn Ser Ser
610 615 620

Ser Gln Leu Ile Val Lys Trp Asn Pro Pro Ser Leu Pro Asn Gly Asn
625 630 635 640

Leu Ser Tyr Tyr Ile Val Arg Trp Gln Arg Gln Pro Gln Asp Gly Tyr
645 650 655

Leu Tyr Arg His Asn Tyr Cys Ser Lys Asp Lys Ile Pro Ile Arg Lys
660 665 670

Tyr Ala Asp Gly Thr Ile Asp Ile Glu Glu Val Thr Glu Asn Pro Lys
675 680 685

Thr Glu Val Cys Gly Gly Glu Lys Gly Pro Cys Cys Ala Cys Pro Lys
690 695 700

Thr Glu Ala Glu Lys Gln Ala Glu Lys Glu Glu Ala Glu Tyr Arg Lys
705 710 715 720

Val Phe Glu Asn Phe Leu His Asn Ser Ile Phe Val Pro Arg Pro Glu
725 730 735

Arg Lys Arg Arg Asp Val Met Gln Val Ala Asn Thr Thr Met Ser Ser
740 745 750

Arg Ser Arg Asn Thr Thr Ala Ala Asp Thr Tyr Asn Ile Thr Asp Pro
755 760 765

Glu Glu Leu Glu Thr Glu Tyr Pro Phe Phe Glu Ser Arg Val Asp Asn
770 775 780

Lys Glu Arg Thr Val Ile Ser Asn Leu Arg Pro Phe Thr Leu Tyr Arg
785 790 795 800

Ile Asp Ile His Ser Cys Asn His Glu Ala Glu Lys Leu Gly Cys Ser
805 810 815

Ala Ser Asn Phe Val Phe Ala Arg Thr Met Pro Ala Glu Gly Ala Asp
820 825 830

Asp Ile Pro Gly Pro Val Thr Trp Glu Pro Arg Pro Glu Asn Ser Ile
835 840 845

Phe Leu Lys Trp Pro Glu Pro Glu Asn Pro Asn Gly Leu Ile Leu Met
850 855 860

Tyr Glu Ile Lys Tyr Gly Ser Gln Val Glu Asp Gln Arg Glu Cys Val
865 870 875 880

Ser Arg Gln Glu Tyr Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Lys Leu Asn Arg Leu
885 890 895

Asn Pro Gly Asn Tyr Thr Ala Arg Ile Gln Ala Thr Ser Leu Ser Gly
900 905 910

Asn Gly Ser Trp Thr Asp Pro Val Phe Phe Tyr Val Gln Ala Lys Thr
915 920 925

Gly Tyr Glu Ala Ala Ala Ala Arg Lys Cys Ser Leu Thr Gly Lys Trp
930 935 940

Thr Asn Asp Leu Gly Ser Asn Met Thr Ile Gly Ala Val Asn Ser Lys
945 950 955 960

Gly Glu Phe Thr Gly Thr Tyr Thr Thr Ala Val Thr Ala Thr Ser Asn
965 970 975

Glu Ile Lys Glu Ser Pro Leu His Gly Thr Gln Asn Thr Ile Asn Lys
980 985 990

Arg Thr Gln Pro Thr Phe Gly Phe Thr Val Asn Trp Lys Phe Ser Glu
995 1000 1005

Ser Thr Thr Val Phe Thr Gly Gln Cys Phe Ile Asp Arg Asn Gly
1010 1015 1020

Lys Glu Val Leu Lys Thr Met Trp Leu Leu Arg Ser Ser Val Asn
1025 1030 1035

Asp Ile Gly Asp Asp Trp Lys Ala Thr Arg Val Gly Ile Asn Ile
1040 1045 1050

Phe Thr Arg Leu Arg Thr Gln Lys Glu
1055 1060

<210> 234
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial;

<400> 234

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 235
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain constant region

<400> 235

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

```
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225                 230                 235                 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                325                 330
```

<210> 236
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> light chain CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> x is serine or threonine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (10)..(10)
<223> x is asparagine, serine or histidine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)
<223> x is tyrosine or phenylalanine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> x is aspartate or asparagine residue

<400> 236

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Xaa Xaa Gly Tyr Asn Xaa Leu Xaa
1 5 10 15

<210> 237
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> light chain CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> x is serine or aspartate residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> x is alanine or aspartate residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> x is serine or asparagine residue

<400> 237

Thr Arg Ser Ser Gly Xaa Ile Xaa Xaa Asn Tyr Val Gln
1 5 10

<210> 238
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> light chain CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> x is glycine or serine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)

<223> x is isoleucine, valine or proline residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> x is serine, glycine or tyrosine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> x is any amino acid

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> x is phenylalanine, tyrosine, asparagine or tryptophan residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (11)..(11)
<223> x is alanine or asparagine residue

<400> 238

Arg Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa
1 5 10

<210> 239
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> light chain CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> x is glycine or valine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> x is serine or phenylalanine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is asparagine, tyrosine or threonine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> x is alanine or aspartate residue

<400> 239

Leu Xaa Xaa Xaa Arg Xaa Ser
1 5

<210> 240
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> light chain CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> x is alanine or threonine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is threonine or glycine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> x is glutamine or glutamate residue

<400> 240

Ala Xaa Ser Xaa Leu Xaa Ser
1 5

<210> 241
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> light chain CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> x is glutamate, glutamine or glycine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> x is aspartate or lysine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is any amino acid residue

<400> 241

Xaa Xaa Asn Xaa Arg Pro Ser
1 5

<210> 242
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> light chain CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> x is glutamine or glutamate residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> x is alanine, glycine, serine or threonine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is leucine or threonine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> x is glutamine, glutamate or histidine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> x is threonine, tryptophan, methionine or valine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> x is nonpolar side chain

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> x is threonine, serine or alanine residue

<400> 242

Met Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Xaa
1 5

<210> 243
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> light chain CDR3

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> x is arginine, serine, leucine or alanine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is asparagine, serine or histidine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> x is serine or asparagine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> x is nonpolar side chain

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> x is leucine, isoleucine, tyrosine or tryptophan residue

<400> 243

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr
1 5

<210> 244
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> light chain CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is aspartate or glutamine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> x is serine or aspartate residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> x is glutamine, valine or tryptophan residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> x is arginine residue or no residue

<400> 244

Gln Ser Tyr Xaa Ser Xaa Asn Xaa Xaa Val
1 5 10

<210> 245
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> serine residue or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> x is serine or asparagine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> x is asparagine and isoleucine residue

<400> 245

Xaa Xaa Xaa Trp Trp Ser
1 5

<210> 246
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> x is glycine, asparagine or aspartate residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> x is tyrosine or phenylalanine residue

<400> 246

Xaa Xaa Tyr Trp Ser
1 5

<210> 247
<211> 5

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> x is alanine or glycine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is methionine or isoleucine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> x is serine or histidine residue

<400> 247

Ser Tyr Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 248
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> x is glutamate, tyrosine or serine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> x is isoleucine or valine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> x is tyrosine, asparagine or serine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is histidine, tryosine, aspartate,or proline residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> x is serine or arginine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> x is serine or arginine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> x is asparagine or tyrosine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)..(15)
<223> x is lysine or glutamate residue

<400> 248

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Thr Xaa Tyr Asn Pro Ser Leu Xaa Ser
1 5 10 15

<210> 249
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> x is threonine, alanine, valine or tyrosine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is glycine, serine or tyrosine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> x is serine, asparagine or aspartate residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> x is glycine or serine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> x is glycine, serine or aspartate residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> x is serine, threonine or asparagine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> x is threonine, lysine or isoleucine residue

<400> 249

Xaa Ile Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 250
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> x is glutamate or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> x is tyrosine, glycine or serine or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> x is serine, asparagine, tryptophan or glutamate or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is serine, aspartate, tryptophan, alanine, arginine, threonine, glutamine, leucine or glutamate or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> x is serine, glycine, asparagine, threonine, tryptophan, alanine, valine or isoleucine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> x is arginine, glutamine, tyosine, valine, alanine, glycine, serine, phenylalanine or tryptophan residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> x is leucine, asparagine, aspartate, threonine, tryptophan,

tyrosine, valine, alanine, or histidine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(9)
<223> x is aspartate, serine, asparagine or glutamine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> x is alanine or proline residue

<400> 250

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 251
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> x is alanine or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> x is glutamate, tryosine or glycine or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> x is serine, asparagine, tryptophan, glutamate or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is aspartate, glycine, serine, or valine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> x is serine, glycine, or aspartate residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> x is glycine, phenylalanine, aspartate, serine, tryptophan, or tyrosine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)

<223> x i is a tyrosine, tryptophan, serine, or aspartate residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> x is aspartate, arginine, serine, glycine, tyrosine, or tryptophan residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> x is tyrosine, isoleucine, leucine, phenylalanine, or lysine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (10)..(10)
<223> x is tyrosine, phenylalanine, aspartate, or glycine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (11)..(11)
<223> x is glycine, tyrosine, or asparagine residue

<400> 251

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Met Asp Val
1 5 10

<210> 252
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> x is aspartate or valine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> x is glycine, tyrosine, arginine, or aspartate residue, or no residue,

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> x is asparagine, leucine, glycine, isoleucine, serine, valine, phenylalanine, or tyrosine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is leucine, serine, tryptophan, alanine, tyrosine, isoleucine,

glycine, or aspartate residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> x is glycine, alanine, tyrosine, serine, aspartate, or leucine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> x is valine, alanine, glycine, threonine, proline, histidine, or glutamine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> x is glutamate, glycine, serine, aspartate, glycine, valine, tryptophan, histidine, or arginine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> x is glutamine, alanine, glycine, tyrosine, proline, leucine, aspartate, or serine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> x is nonpolar side chain residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (10)..(10)
<223> x is aspartate or alanine residue

<400> 252

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr
1 5 10

<210> 253
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Heavy chain CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> x is glycine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> x is proline residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> x is arginine or aspartate residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is histidine or proline residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> x is arginine or glycine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> x is arginine, serine, or phenylalanine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> x is aspartate or serine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> x is glycine, tryptophan, or tyrosine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> x is tyrosine or alanine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (10)..(10)
<223> x is asparagine or tryptophan residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)..(14)
<223> x is asparagine or leucine residue

<400> 253

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Phe Asp Xaa
1 5 10

<210> 254
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> heavy chain CDR3

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> x is phenylalanine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> x is asparagine or glycine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> x is tyrosine or a leucine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> x is a tyrosine or glycine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> x is a glycine, serine, or valine residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> x is tyrosine, phenylalanine, tryptophan, or glutamine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (10)..(10)
<223> x is tyrosine, glycine, or isoleucine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (11)..(11)
<223> x is tyrosine, leucine, or glycine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (12)..(12)
<223> x is methionine, glycine, or phenylalanine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)..(13)
<223> x is aspartate or methionine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)..(14)
<223> x is a valine,aspartate, or tyrosine residue, or no residue

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)..(15)
<223> x is a valine residue, or no residue

<400> 254

Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Ser Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

<210> 255
<211> 8
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> polypeptide

<400> 255
dykddddk 8

<210> 256
<211> 37
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 256
agcaagcttc caccatgaag tctggctccg gaggagg 37

<210> 257
<211> 36
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 257
atttgtcgac ttcgtccaga tggatgaagt tttcat 36

<210> 258
<211> 3486
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 258
atgaagtctg gctccggagg agggtccccg acctcgctgt gggggctcct gtttctctcc 60

gccgcgctct cgctctggcc gacgagtgga gaaatctgcg ggccaggcat cgacatccgc 120

aacgactatc agcagctgaa gcgcctggag aactgcacgg tgatcgaggg ctacctccac 180

atcctgctca tctccaaggc cgaggactac cgcagctacc gcttccccaa gctcacggtc 240

attaccgagt acttgctgct gttccgagtg gctggcctcg agagcctcgg agacctcttc 300

cccaacctca cggtcatccg cgggtggaaa ctcttctaca actacgccct ggtcatcttc 360

gagatgacca atctcaagga tattgggctt tacaacctga ggaacattac tcgggggggc 420

atcaggattg agaaaaatgc tgacctctgt tacctctcca ctgtggactg gtccctgatc 480

ctggatgcgg tgtccaataa ctacattgtg gggaataagc ccccaaagga atgtggggac 540

ctgtgtccag ggaccatgga ggagaagccg atgtgtgaga agaccaccat caacaatgag 600

tacaactacc gctgctggac cacaaaccgc tgccagaaaa tgtgcccaag cacgtgtggg 660

aagcgggcgt gcaccgagaa caatgagtgc tgccaccccg agtgcctggg cagctgcagc 720

gcgcctgaca acgacacggc ctgtgtagct tgccgccact actactatgc cggtgtctgt 780

gtgcctgcct gcccgcccaa cacctacagg tttgagggct ggcgctgtgt ggaccgtgac 840

ttctgcgcca acatcctcag cgccgagagc agcgactccg aggggtttgt gatccacgac 900

ggcgagtgca tgcaggagtg cccctcgggc ttcatccgca acggcagcca gagcatgtac 960

tgcatccctt gtgaaggtcc ttgcccgaag gtctgtgagg aagaaaagaa aacaaagacc 1020

attgattctg ttacttctgc tcagatgctc caaggatgca ccatcttcaa gggcaatttg 1080

ctcattaaca tccgacgggg gaataacatt gcttcagagc tggagaactt catggggctc 1140

atcgaggtgg tgacgggcta cgtgaagatc cgccattctc atgccttggt ctccttgtcc 1200

ttcctaaaaa accttcgcct catcctagga gaggagcagc tagaagggaa ttactccttc 1260

tacgtcctcg acaaccagaa cttgcagcaa ctgtgggact gggaccaccg caacctgacc 1320

atcaaagcag ggaaaatgta ctttgctttc aatcccaaat tatgtgtttc cgaaatttac 1380

cgcatggagg aagtgacggg gactaaaggg cgccaaagca aaggggacat aaacaccagg 1440

aacaacgggg agagagcctc ctgtgaaagt gacgtcctgc atttcacctc caccaccacg 1500

tcgaagaatc gcatcatcat aacctggcac cggtaccggc cccctgacta cagggatctc 1560

atcagcttca ccgtttacta caaggaagca ccctttaaga atgtcacaga gtatgatggg 1620

caggatgcct gcggctccaa cagctggaac atggtggacg tggacctccc gcccaacaag 1680

gacgtggagc ccggcatctt actacatggg ctgaagccct ggactcagta cgccgtttac 1740

gtcaaggctg tgaccctcac catggtggag aacgaccata tccgtggggc caagagtgag 1800

atcttgtaca ttcgcaccaa tgcttcagtt ccttccattc ccttggacgt tctttcagca 1860

tcgaactcct cttctcagtt aatcgtgaag tggaaccctc cctctctgcc caacggcaac 1920

ctgagttact acattgtgcg ctggcagcgg cagcctcagg acggctacct ttaccggcac 1980

aattactgct ccaaagacaa aatccccatc aggaagtatg ccgacggcac catcgacatt 2040

gaggaggtca cagagaaccc caagactgag gtgtgtggtg gggagaaagg gccttgctgc 2100

gcctgcccca aaactgaagc cgagaagcag gccgagaagg aggaggctga ataccgcaaa 2160

gtctttgaga atttcctgca caactccatc ttcgtgccca gacctgaaag gaagcggaga 2220

gatgtcatgc aagtggccaa caccaccatg tccagccgaa gcaggaacac cacggccgca 2280

gacacctaca acatcactga cccggaagag ctggagacag agtacccttt ctttgagagc 2340

agagtggata acaaggagag aactgtcatt tctaaccttc ggcctttcac attgtaccgc 2400

atcgatatcc acagctgcaa ccacgaggct gagaagctgg gctgcagcgc ctccaacttc 2460

gtctttgcaa ggactatgcc cgcagaagga gcagatgaca ttcctgggcc agtgacctgg 2520

gagccaaggc ctgaaaactc catcttttta aagtggccgg aacctgagaa tcccaatgga 2580

ttgattctaa tgtatgaaat aaaatacgga tcacaagttg aggatcagcg agaatgtgtg 2640

tccagacagg aatacaggaa gtatggaggg gccaagctaa accggctaaa cccggggaac 2700

tacacagccc ggattcaggc cacatctctc tctgggaatg ggtcgtggac agatcctgtg 2760

ttcttctatg tccaggccaa aacaggatat gaaaacttca tccatctgga cgaagtcgac 2820

ggttgtaagc cttgcatatg tacagtccca gaagtatcat ctgtcttcat cttccccca 2880

aagcccaagg atgtgctcac cattactctg actcctaagg tcacgtgtgt tgtggtagac 2940

atcagcaagg atgatcccga ggtccagttc agctggtttg tagatgatgt ggaggtgcac 3000

acagctcaga cgcaaccccg ggaggagcag ttcaacagca ctttccgctc agtcagtgaa 3060

cttcccatca tgcaccagga ctggctcaat ggcaaggagt tcaaatgcag ggtaaacagt 3120

gcagctttcc ctgcccccat cgagaaaacc atctccaaaa ccaaaggcag accgaaggct 3180

ccacaggtgt acaccattcc acctcccaag gagcagatgg ccaaggataa agtcagtctg 3240

acctgcatga taacagactt cttccctgaa gacattactg tggagtggca gtggaatggg 3300

cagccagcgg agaactacaa gaacactcag cccatcatgg acacagatgg ctcttacttc 3360

gtctacagca agctcaatgt gcagaagagc aactgggagg caggaaatac tttcacctgc 3420

tctgtgttac atgagggcct gcacaaccac catactgaga agagcctctc ccactctcct 3480

ggtaaa 3486

<210> 259
<211> 32
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 259
agcaagcttc caccatgggc accggggggc gg 32

<210> 260

<211> 37
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 260
atttgtcgac ttttgcaata tttgaggggа ggtctaa 37

<210> 261
<211> 3540
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 261
atgggcaccg ggggccggcg gggggcggcg gccgcgccgc tgctggtggc ggtggccgcg 60

ctgctactgg gcgccgcggg ccacctgtac cccggagagg tgtgtcccgg catggatatc 120

cggaacaacc tcactaggtt gcatgagctg gagaattgct ctgtcatcga aggacacttg 180

cagatactct tgatgttcaa aacgaggccc gaagatttcc gagacctcag tttccccaaa 240

ctcatcatga tcactgatta cttgctgctc ttccgggtct atgggctcga gagcctgaag 300

gacctgttcc ccaacctcac ggtcatccgg ggatcacgac tgttctttaa ctacgcgctg 360

gtcatcttcg agatggttca cctcaaggaa ctcggcctct acaacctgat gaacatcacc 420

cggggttctg tccgcatcga gaagaacaat gagctctgtt acttggccac tatcgactgg 480

tcccgtatcc tggattccgt ggaggataat cacatcgtgt tgaacaaaga tgacaacgag 540

gagtgtggag acatctgtcc gggtaccgcg aagggcaaga ccaactgccc cgccaccgtc 600

atcaacgggc agtttgtcga acgatgttgg actcatagtc actgccagaa agtttgcccg 660

accatctgta agtcacacgg ctgcaccgcc gaaggcctct gttgccacag cgagtgcctg 720

ggcaactgtt ctcagcccga cgaccccacc aagtgcgtgg cctgccgcaa cttctacctg 780

gacggcaggt gtgtggagac ctgcccgccc ccgtactacc acttccagga ctggcgctgt 840

gtgaacttca gcttctgcca ggacctgcac cacaaatgca agaactcgcg gaggcagggc 900

tgccaccagt acgtcattca caacaacaag tgcatccctg agtgtccctc cgggtacacg 960

atgaattcca gcaacttgct gtgcacccca tgcctgggtc cctgtcccaa ggtgtgccac 1020

ctcctagaag gcgagaagac catcgactcg gtgacgtctg cccaggagct ccgaggatgc 1080

accgtcatca acgggagtct gatcatcaac attcgaggag gcaacaatct ggcagctgag 1140

ctagaagcca acctcggcct cattgaagaa atttcagggt atctaaaaat ccgccgatcc 1200

tacgctctgg tgtcactttc cttcttccgg aagttacgtc tgattcgagg agagaccttg 1260

gaaattggga actactcctt ctatgccttg gagaaccaga acctaaggca gctctgggac 1320

tggagcaaac acaacctcac caccactcag gggaaactct tcttccacta taaccccaaa 1380

ctctgcttgt cagaaatcca caagatggaa gaagtttcag gaaccaaggg gcgccaggag 1440

agaaacgaca ttgccctgaa gaccaatggg gacaaggcat cctgtgaaaa tgagttactt 1500

aaatttttctt acattcggac atcttttgac aagatcttgc tgagatgggg gccgtactgg 1560

ccccccgact tccgagacct cttgggggttc atgctgttct acaaagaggc ccctttatcag 1620

aatgtgacgg agttcgatgg gcaggatgcg tgtggttcca acagttggac ggtggtagac 1680

attgacccac ccctgaggtc caacgacccc aaatcacaga accacccagg gtggctgatg 1740

cggggtctca agccctggac ccagtatgcc atctttgtga agaccctggt caccttttcg 1800

gatgaacgcc ggacctatgg ggccaagagt gacatcattt atgtccagac agatgccacc 1860

aacccctctg tgcccctgga tccaatctca gtgtctaact catcatccca gattattctg 1920

aagtggaaac caccctccga ccccaatggc aacatcaccc actacctggt tttctgggag 1980

aggcaggcgg aagacagtga gctgttcgag ctggattatt gcctcaaagg gctgaagctg 2040

ccctcgagga cctggtctcc accattcgag tctgaagatt ctcagaagca caaccagagt 2100

gagtatgagg attcggccgg cgaatgctgc tcctgtccaa agacagactc tcagatcctg 2160

aaggagctgg aggagtcctc gtttaggaag acgtttgagg attacctgca caacgtggtt 2220

ttcgtcccca gaaaaacctc ttcaggcact ggtgccgagg accctaggcc atctcggaaa 2280

cgcaggtccc ttggcgatgt tgggaatgtg acggtggccg tgcccacggt ggcagctttc 2340

cccaacactt cctcgaccag cgtgcccacg agtccggagg agcacaggcc ttttgagaag 2400

gtggtgaaca aggagtcgct ggtcatctcc ggcttgcgac acttcacggg ctatcgcatc 2460

gagctgcagg cttgcaacca ggacacccct gaggaacggt gcagtgtggc agcctacgtc 2520

agtgcgagga ccatgcctga agccaaggct gatgacattg ttggccctgt gacgcatgaa 2580

atctttgaga acaacgtcgt ccacttgatg tggcaggagc cgaaggagcc caatggtctg 2640

atcgtgctgt atgaagtgag ttatcggcga tatggtgatg aggagctgca tctctgcgtc 2700

tcccgcaagc acttcgctct ggaacggggc tgcaggctgc gtgggctgtc accggggaac 2760

tacagcgtgc gaatccgggc cacctccctt gcgggcaacg gctcttggac ggaacccacc 2820

tatttctacg tgacagacta tttagacgtc ccgtcaaata ttgcaaaagt cgacggttgt 2880

aagccttgca tatgtacagt cccagaagta tcatctgtct tcatcttccc cccaaagccc 2940

aaggatgtgc tcaccattac tctgactcct aaggtcacgt gtgttgtggt agacatcagc 3000

aaggatgatc ccgaggtcca gttcagctgg tttgtagatg atgtggaggt gcacacagct 3060

cagacgcaac cccgggagga gcagttcaac agcactttcc gctcagtcag tgaacttccc 3120

atcatgcacc aggactggct caatggcaag gagttcaaat gcagggtaaa cagtgcagct 3180

ttccctgccc ccatcgagaa aaccatctcc aaaaccaaag gcagaccgaa ggctccacag 3240

gtgtacacca ttccacctcc caaggagcag atggccaagg ataaagtcag tctgacctgc 3300

atgataacag acttcttccc tgaagacatt actgtggagt ggcagtggaa tgggcagcca 3360

gcggagaact acaagaacac tcagcccatc atggacacag atggctctta cttcgtctac 3420

agcaagctca atgtgcagaa gagcaactgg gaggcaggaa atactttcac ctgctctgtg 3480

ttacatgagg gcctgcacaa ccaccatact gagaagagcc tctcccactc tcctggtaaa 3540

<210> 262
<211> 1409
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 262
tctagaccac catggacatc aggctcagct tagttttcct tgtccttttc ataaaaggtg 60

tccagtgtga ggtagaactg gtggagtctg ggggcggctt agtacaacct ggaaggtcca 120

tgacactctc ctgtgcagcc tcgggattca ctttcagaac ctatggcatg gcctgggtcc 180

gccaggcccc aacgaagggt ctggagtggg tctcatcaat tactgctagt ggtggtacca 240

cctactatcg agactccgtg aagggccgct tcactatttt tagggataat gcaaaaagta 300

ccctatacct gcagatggac agtccgaggt ctgaggacac ggccacttat ttctgtacat 360

caatttcgga atactggggc cacggagtca tggtcaccgt ctctagtgcc tccaccaagg 420

gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc acagcggccc 480

tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg 540

ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga ctctactccc 600

tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg 660

tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa tcttgtgaca 720

aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg tcagtcttcc 780

tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag gtcacatgcg 840

tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg 900

tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg 960

tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca 1020

aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc 1080

agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc 1140

aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg 1200

agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg gactccgacg 1260

gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg 1320

tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct 1380

ccctgtctcc gggtaaatga taagtcgac 1409

<210> 263
<211> 22
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> protein

<400> 263

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys
20

<210> 264
<211> 22
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> protein

<400> 264

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys
20

<210> 265
<211> 28
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 265
gcaagcttgg gagaaatctg cgggccag 28

<210> 266
<211> 32
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 266
attgcggccg cttcatatcc tgttttgggc tg 32

<210> 267
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 267
attgcggccg ccccacattc ctttgggggc 30

<210> 268
<211> 28
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 268
agcaagcttg gacctgtgtc cagggagc 28

<210> 269
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 269
attgcggccg cgcaaggacc ttcacaaggg 30

<210> 270
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 270
agcaagcttg ccgaaggtct gtgaggaag 29

<210> 271
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 271
attgcggccg cactttcaca ggagggtctc 30

<210> 272
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 272
agcaagcttg gacgtcctgc atttcaaatc 30

<210> 273
<211> 32
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 273
attgcggccg cggtgcgaat gtacaagatc tc 32

<210> 274
<211> 32
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 274
agcaagcttg aatgcttcag ttccttccat tc 32

<210> 275
<211> 33
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 275
attgcggccg cagtccttgc aaagacgaag ttg 33

<210> 276

<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 276
agcaagcttg atgcccgcag aaggagcag 29

<210> 277
<211> 32
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 277
attgcggccg ctttaatggc cactctggtt tc 32

<210> 278
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 278
agcaagcttg ggagaaatct gcgggccag 29

<210> 279
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> nucleic acid

<400> 279
agcaagcttg ggagaaatct gcgggccag 29