



No. 11-181044- -00000-0000

Fecha: 2011-12-29 16:42:01 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 163



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION

TITULO: POLIPÉPTIDOS Y MÉTODO DE TRATAMIENTO.

SOLICITANTE: GLAXO GROUP LIMITED

DIRECCIÓN: Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford,
Middlesex UB6 ONN Reino Unido

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 29 de Diciembre de 2011

P2011/000224



**PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT**

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2011/000224

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: GLAXO GROUP LIMITED

Dirección: Glaxo Wellcome House, Berkeley
Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN. Reino
Unido.

Nacionalidad o Domicilio: Británica

Lugar de Constitución: Gran Bretaña

Teléfono: _____ **Fax:** _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ **NIT** ☐

C.E. ☐ **Otro** ☐

Cual _____

Número _____

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No. 34-03, Bogotá

Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799

E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ **NIT** ☐

C.E. ☐ **Otro** ☐

Cual _____

Número 79782747Bta
TP 74.295

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA.

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA.

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA.

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2010/040724 Fecha Julio 01, 2010

Publicación Internacional No. WO 2011/002968 Fecha Enero 06, 2011

6

Título (54) POLIPÉPTIDOS Y MÉTODO DE TRATAMIENTO.

Clasificación Internacional (51) A61K 39/395.

Prioridad
SI ☒ **NO** ☐

(33) País de Origen

US

US

(32) Fecha

Julio 02, 2009

Octubre 08, 2009

(31) Número de Solicitud

61/222,521

61/249,757

9

Comprobante de pago No. 11-

Fecha Diciembre de 2011

**ANEXOS**

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.



Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.



Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple ver expediente No. 09-149371.



Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.



Declaraciones. Declaración bajo la regla 4.17 (ii) del PCT.



Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).



Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.



De ser el caso, copia del contrato de acceso.



De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.



De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.



Arte final 12 x 12.



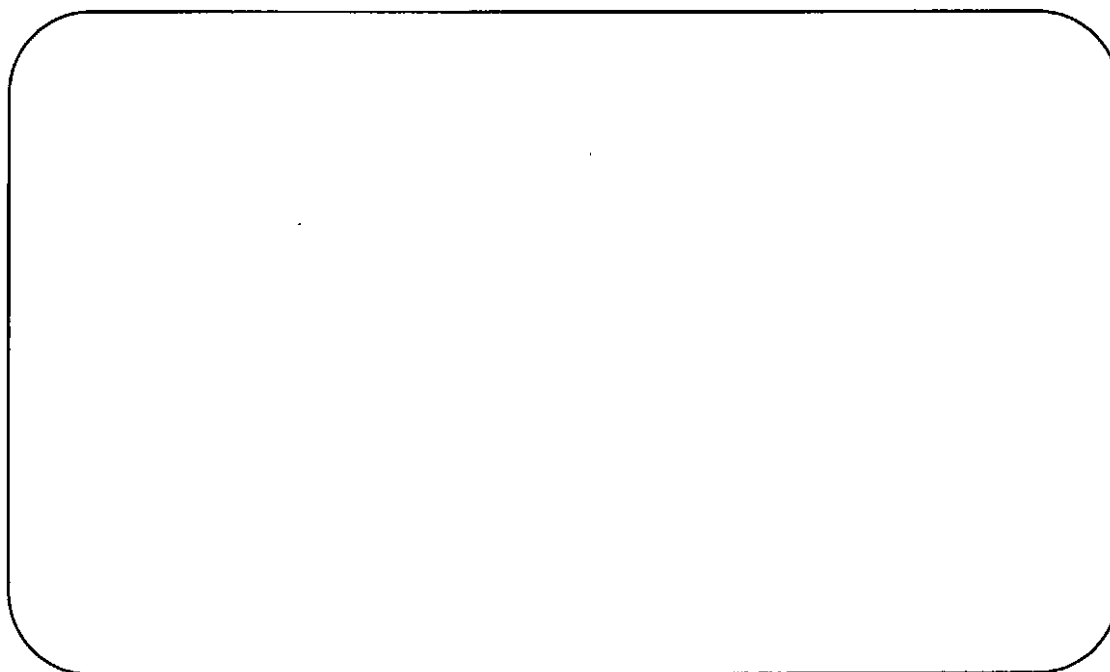
De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.



De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

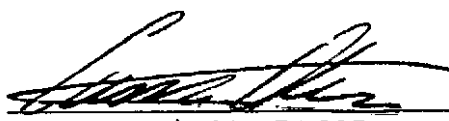


Otros. Búsqueda Internacional

**FIGURA CARACTERÍSTICA:**

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES

PCT/US2010/040724

Michael Neil BURDEN

Gunnels Wood Road

Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY

Reino Unido

Nacionalidad: Británica

Paul Andrew HAMBLIN

Gunnels Wood Road

Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY

Reino Unido

Nacionalidad: Británica

Jonathan David LARKIN

709 Swedeland Road

King of Prussia, PA 19406

Estados Unidos de América

Nacionalidad: Estadounidense

John Richard WHITE

709 Swedeland Road

King of Prussia, PA 19406

Estados Unidos de América

Nacionalidad: Estadounidense

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

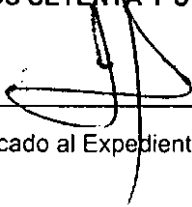
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 11 - 126950
		Bogotá D.C., Diciembre 29 de 2011 - 10:45:33

RECIBIDO DE : OLARTE MOURE & ASOCIADOS NI 830.122.870

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	409132802	28/12/2011	6.677.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	571.000.00 571.000.00
			\$571.000.00
			=====

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-181044-00000-0000
Fecha: 2011-12-29 16:42:01 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYI Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 163

4

Traducción oficial del Inglés por Marlén Neira Castro, resolución 2117 del Ministerio de Justicia de Colombia

APOSTILLA EN PODER DE REPRESENTACIÓN DE

GLAXO GROUP LIMITED

PODER DE REPRESENTACION

Bilingüe inglés- español otorgado en Brentford, Middlesex, Inglaterra el 13 de agosto de 2003 y firmado por Peter John Giddings, Apoderado y Funcionario autorizado.

Certificado de Notario De Pinna en español firmado por James Kerr Milligan

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
- Este documento Público
2. ha sido firmado por James Kerr Milligan
3. Quien ejerce funciones de Notario público
4. Lleva el sello del Notario público

CERTIFICADO

5. En Londres
6. El 14 agosto 2003
7. Por el Secretario de Estado Principal de su Majestad para Asuntos exteriores y de la Mancomunidad
8. No. G229474
9. Gran Sello de la Oficina de Asuntos exteriores y de la Mancomunidad
10. Firma legible de J. Garbrah- Por el Secretario de Estado

Si el documento se usa en un país que no pertenece a la Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961 debe pasar por la sección consular de la Misión que representa el país.

Es traducción fiel del inglés, con copia archivo para confrontación. Bogotá 21 agosto-03.

Marlen Neira C

Marlen Neira C

MARLEN NEIRA CASTRO

Traductor e Intérprete Oficial

Inglés - Español - Inglés

Resolución No. 2117 del 7 de Octubre de 2003

DE PINNA
N O T A R I O S

Yo, el infrascrito **JAMES KERR MILLIGAN**, Notario Público de la Ciudad de Londres, Inglaterra, por la Autoridad Real debidamente admitido y juramentado,

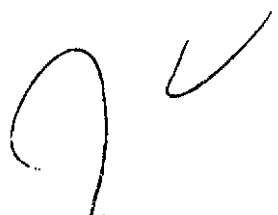
C E R T I F I C O:

QUE es auténtica la firma suscrita al pie del adjunto Poder, por ser del puño y letra del Señor Don **PETER JOHN GIDDINGS**, cuya identidad me consta, Apoderado de la Sociedad inglesa denominada "**GLAXO GROUP LIMITED**", Sociedad legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de Inglaterra, e inscrita en la Oficina de Registro de Sociedades bajo el número **305979**, con domicilio social en Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 ONN, Inglaterra;

QUE el citado Señor Don **PETER JOHN GIDDINGS** está debidamente autorizado para firmar documentos de esta clase en nombre y representación de dicha Sociedad en virtud de un Poder otorgado por la referida Sociedad fechado 3 de julio de 2002.

Y QUE los objetos para los cuales se otorgó dicho Poder se encuentran dentro de los objetos o actividades de la citada Sociedad, de acuerdo con la Escritura Constitutiva y los Estatutos Sociales, los cuales he tenido a la vista.

Y PARA QUE CONSTE donde y como convenga y fuere necesario expido el presente Certificado que firmo y sello en dicha Ciudad de Londres, el día de hoy vece de agosto del año dos mil tres.



JAMES KERR MILLIGAN
Notario Público de Londres, Inglaterra



APOSTILLE

(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document / Le présent acte public

2. Has been signed by **James Kerr Milligan**
a été signé par

3. Acting in the capacity of **Notary Public**
agissant en qualité de

4. Bears the seal/stamp of **The Said Notary Public**
est revêtu du sceau/timbre de

5. at London/à Londres
6. the/le **14 August 2003**

7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

8. Number/sous No **G229474**

9. Stamp:
timbre:
10. Signature: **J. Garbrah**



For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961,
it should be presented to the consular section of the mission representing that country.

OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER - TORRE C
CALLE 100 No. 8A-55 PISO 10
BOGOTA, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 638-6200
Fax: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN, GB

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck and Ana**

María Frieri full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents, Utility Models and Industrial Designs in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, appeals, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

Poder

El suscrito,

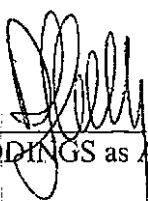
domiciliado en

por medio del presente otorga a **Carlos R.**

Olarte, J. Ian Raisbeck y Ana María

Frieri poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de Patentes, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, apelaciones, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma:


Peter John GIDDINGS as Attorney and Authorised Official

Date/Fecha: 13 August 2003

City/Country/Ciudad/Pais: Brentford, Middlesex, England

Box No. VIII(ii) DECLARATION: ENTITLEMENT TO APPLY FOR AND BE GRANTED A PATENT

The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 212; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII(1) to (v) (in general and the specific Notes to Box No. VIII(ii)). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51*bis*.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate:
in relation to International Application No. PCT/US2010/040724,

GLAXO GROUP LIMITED is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:

an assignment from

BURDEN, Michael Neil, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY, United Kingdom, to
GLAXO GROUP LIMITED, dated 05 August 2010;

HAMBLIN, Paul Andrew, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY, United Kingdom,
to GLAXO GROUP LIMITED, dated 05 August 2010;

LARKIN, Jonathan David, 709 Swedeland Road, King of Prussia, Pennsylvania 19406, United States of
America to GLAXO GROUP LIMITED, dated 03 August 2010; and

WHITE, John Richard, 709 Swedeland Road, King of Prussia, Pennsylvania 19406, United States of
America to GLAXO GROUP LIMITED, dated 03 August 2010.

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII(ii)".

Form PCT/RO/101 (declaration sheet (ii)) (March 2001; reprint January 2003)

See Notes to the request form

Box No. VIII(iii) DECLARATION: ENTITLEMENT TO CLAIM PRIORITY

The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 213; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII(i) to (v) (in general) and the specific Notes to Box No. VIII(iii) and 51 bis.1(a)(iii)

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application specified below, where the applicant is not the applicant who filed the earlier application or where the applicant's name has changed since the filing of the earlier application (Rules 4.17(iii) and 51 bis.1(a)(iii)):

in relation to International Application No. PCT/US2010/040724,
GLAXO GROUP LIMITED is entitled to claim priority of earlier applications Nos. 61/222521 and 61/249757 filed in the United States of America by virtue of the following:

an assignment from

BURDEN, Michael Neil, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY, United Kingdom, to
GLAXO GROUP LIMITED, dated 05 August 2010;

HAMBLIN, Paul Andrew, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY, United Kingdom,
to GLAXO GROUP LIMITED, dated 05 August 2010;

LARKIN, Jonathan David, 709 Swedeland Road, King of Prussia, Pennsylvania 19406, United States of
America to GLAXO GROUP LIMITED, dated 03 August 2010; and

WHITE, John Richard, 709 Swedeland Road, King of Prussia, Pennsylvania 19406, United States of
America to GLAXO GROUP LIMITED, dated 03 August 2010.

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII(iii)".

Form PCT/RO/101 (declaration sheet (iii)) (March 2001; reprint January 2003)

See Notes to the request form

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
6 January 2011 (06.01.2011)



(10) International Publication Number
WO 2011/002968 A2

(51) International Patent Classification:
A61K 39/395 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2010/040724

(22) International Filing Date:
1 July 2010 (01.07.2010)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/222,521 2 July 2009 (02.07.2009) US
61/249,757 8 October 2009 (08.10.2009) US

(71) Applicant (*for all designated States except US*): **GLAXO GROUP LIMITED** [US/US]; Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN (GB).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (*for US only*): **BURDEN, Michael**, Neil [GB/GB]; Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB). **HAMBLIN, Paul, Andrew** [GB/GB]; Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB). **LARKIN, Jonathan, David** [US/US]; 709 Swedeland Road, King Of Prussia, PA 19406 (US). **WHITE, John, Richard** [US/US]; 709 Swedeland Road, King Of Prussia, PA 19406 (US).

(74) Agents: **DERMOTT, Jonathan, M.** et al.; GLAXO-SMITHKLINE, Corporate Intellectual Property, UW2220, 709 Swedeland Road, P.O. Box 1539, King Of Prussia, PA 19406-0939 (US).

(81) Designated States (*unless otherwise indicated, for every kind of national protection available*): AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (*unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available*): ARIPO (BW, GI, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- *as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))*
- *as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))*
- *of inventorship (Rule 4.17(iv))*

Published:

- *without international search report and to be republished upon receipt of that report (Rule 48.2(g))*
- *with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))*

(54) Title: POLYPEPTIDES AND METHOD OF TREATMENT

(57) Abstract: Provided herein are isolated antigen binding protein comprising at least one first immunoglobulin variable domain capable of binding to human ADAMTSS. Also provided are antigen binding proteins of the present invention that are monoclonal antibodies, pharmaceutical compositions comprising said antigen binding proteins and methods of treatment.

WO 2011/002968 A2

Polypeptides and Method of Treatment

FIELD OF THE INVENTION

This invention relates to methods for inhibiting aggrecanase, in particular
5 ADAMTS5, thereby reducing the break down of aggrecan in cartilage.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Cartilage is an avascular tissue populated by specialized cells termed
chondrocytes, which respond to diverse mechanical and biochemical stimuli. Cartilage is
10 present in the linings of joints, interstitial connective tissues, and basement membranes,
and is composed of an extracellular matrix comprised of several matrix components
including type II collagen, proteoglycans, fibronectin and laminin.

In normal cartilage, extracellular matrix synthesis is offset by extracellular matrix
degradation, resulting in normal matrix turnover. Depending on the signal(s) received,
15 the ensuing response may be either anabolic (leading to matrix production and/or repair)
or catabolic (leading to matrix degradation, cellular apoptosis, loss of function, and pain).

In response to injurious compression and/or exposure to inflammatory mediators
(e.g. inflammatory cytokines) chondrocytes decrease matrix production and increase
production of multiple matrix degrading enzymes. Examples of matrix degrading
20 enzymes include aggrecanases (ADAMTSs) and matrix metalloproteinases (MMPs). The
activities of these enzymes result in the degradation of the cartilage matrix. Aggrecanases
(ADAMTSs), in conjunction with MMPs, degrade aggrecan, an aggregating proteoglycan
present in articular cartilage. In osteoarthritic (OA) articular cartilage a loss of
proteoglycan staining is observed in the superficial zone in early OA and adjacent to areas
25 of cartilage erosion in moderate to severe OA.

Aggrecan catabolism as mediated by aggrecanase occurs at certain conserved sites
in aggrecan. Human ADAMTS4 (shown in Figure 5 as SEQ ID NO:44) and ADAMTS5
(shown in Figure 4 as SEQ ID NO:43) have been shown to cleave aggrecan between
amino acids E373 and A374 producing the neopeptide ARGSVIL (SEQ ID NO:1).

30 Excessive degradation of extracellular matrix is implicated in the pathogenesis of
many diseases and conditions, including pain, chronic pain, neuropathic pain, postoperative
pain, rheumatoid arthritis, osteoarthritis, sports injuries, erosive arthritis, ankylosing

spondylosis, neuralgia, neuropathies, algesia, nerve injury, ischaemia, neurodegeneration, cartilage degeneration, stroke, incontinence, inflammatory disorders, irritable bowel syndrome, periodontal disease, aberrant angiogenesis, tumor invasion and metastasis, corneal ulceration, and in complications of diabetes.

- 5 Thus, there is a need for compounds capable of inhibiting aggrecanase activity and cartilage degradation.

SUMMARY OF THE INVENTION

- 10 The present invention provides isolated polypeptides comprising at least one variable domain capable of binding and/or neutralizing human ADAMTS5.

Also provided are isolated polynucleotides encoding the polypeptides of the present invention.

Also, provided are pharmaceutical compositions comprising at least one polypeptide of the present invention.

- 15 Methods are provided herein for treating a patient suffering from a disease of the cartilage with a pharmaceutical composition of the present invention.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

- 20 Figure 1: *In vitro* Inhibition of ARGSVIL (SEQ ID NO:1) Neoepitope Generation by ADAMTS5 mAbs.

Figure 2: *In vitro* Concentration Dependent Inhibition of ARGSVIL (SEQ ID NO:1) Neoepitope Generation by 7B4.1E11 Murine mAb

- 25 Figure 3: Mean Total Joint Score for Mice Treated with Selected ADAMTS5 Antibodies versus Control *In vivo*

Figure 4: Amino Acid sequence of human ADAMTS5 (SEQ ID NO:43).

- 30 Figure 5: Amino Acid sequence of Human ADAMTS4 (SEQ ID NO:44).

Figure 6: Binding of the humanized anti ADAMTS5 antibodies to recombinant antigen .

Figure 7: Binding of the humanized anti ADAMTS5 antibodies to recombinant antigen .

Figure 8: Binding of the humanized anti ADAMTS5 antibodies to recombinant antigen .

5

Figure 9: Binding of the humanized anti ADAMTS5 antibodies to recombinant antigen .

Figure 10: Percent Inhibition of ADAMTS5 activity.

10 Figure 11: Percent Inhibition of ADAMTS5 activity.

Figure 12: Binding of the purified anti ADAMTS5 antibodies to recombinant antigen.

Figure 13: Structure modeling predicts Ag/Ab interaction sites.

15

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

“Polynucleotide” generally refers to any polyribonucleotide or
20 polydeoxiribonucleotide, which may be unmodified RNA or DNA or modified RNA or
DNA. “Polynucleotides” include, without limitation single- and double-stranded DNA,
DNA that is a mixture of single- and double-stranded regions, single- and double-
stranded RNA, and RNA that is mixture of single- and double-stranded regions, hybrid
molecules comprising DNA and RNA that may be single-stranded or, more typically,
25 double-stranded or a mixture of single- and double-stranded regions. In addition,
“polynucleotide” refers to triple-stranded regions comprising RNA or DNA or both RNA
and DNA. The term polynucleotide also includes DNAs or RNAs containing one or more
modified bases and DNAs or RNAs with backbones modified for stability or for other
reasons. “Modified” bases include, for example, tritylated bases and unusual bases such
30 as inosine. A variety of modifications has been made to DNA and RNA; thus,
“polynucleotide” embraces chemically, enzymatically or metabolically modified forms of
polynucleotides as typically found in nature, as well as the chemical forms of DNA and

RNA characteristic of viruses and cells. "Polynucleotide" also embraces relatively short polynucleotides, often referred to as oligonucleotides.

"Polypeptide" refers to any peptide or protein comprising two or more amino acids joined to each other by peptide bonds or modified peptide bonds, *i.e.*, peptide isosteres. "Polypeptide" refers to both short chains, commonly referred to as peptides, oligopeptides or oligomers, and to longer chains, generally referred to as proteins. Polypeptides may contain amino acids other than the 20 gene-encoded amino acids. "Polypeptides" include amino acid sequences modified either by natural processes, such as posttranslational processing, or by chemical modification techniques that are well known in the art. Such modifications are well described in basic texts and in more detailed monographs, as well as in a voluminous research literature. Modifications can occur anywhere in a polypeptide, including the peptide backbone, the amino acid side-chains and the amino or carboxyl termini. It will be appreciated that the same type of modification may be present in the same or varying degrees at several sites in a given polypeptide. Also, a given polypeptide may contain many types of modifications. Polypeptides may be branched as a result of ubiquitination, and they may be cyclic, with or without branching. Cyclic, branched and branched cyclic polypeptides may result from posttranslation natural processes or may be made by synthetic methods. Modifications include acetylation, acylation, ADP-ribosylation, amidation, covalent attachment of flavin, covalent attachment of a heme moiety, covalent attachment of a nucleotide or nucleotide derivative, covalent attachment of a lipid or lipid derivative, covalent attachment of phosphatidylinositol, cross-linking, cyclization, disulfide bond formation, demethylation, formation of covalent cross-links, formation of cysteine, formation of pyroglutamate, formylation, gamma-carboxylation, glycosylation, GPI anchor formation, hydroxylation, iodination, methylation, myristoylation, oxidation, proteolytic processing, phosphorylation, prenylation, racemization, selenoylation, sulfation, transfer-RNA mediated addition of amino acids to proteins such as arginylation, and ubiquitination. See, for instance, PROTEINS - STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES, 2nd Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York, 1993 and Wold, F., Posttranslational Protein Modifications: Perspectives and Prospects, pgs. 1-12 in POSTTRANSLATIONAL COVALENT MODIFICATION OF PROTEINS, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, 1983; Seifter, *et al.*, "Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors", *Meth. Enzymol.* (1990) 182:626-646 and

Rattan, *et al.*, "Protein Synthesis: Posttranslational Modifications and Aging", *Ann NY Acad Sci* (1992) 663:48-62.

"Variant" as the term is used herein, is a polynucleotide or polypeptide that differs from a reference polynucleotide or polypeptide respectively, but retains essential properties. A typical variant of a polynucleotide differs in nucleotide sequence from another, reference polynucleotide. Changes in the nucleotide sequence of the variant may or may not alter the amino acid sequence of a polypeptide encoded by the reference polynucleotide. Nucleotide changes may result in amino acid substitutions, additions, deletions, fusions and truncations in the polypeptide encoded by the reference sequence, as discussed below. A typical variant of a polypeptide differs in amino acid sequence from another, reference polypeptide. Generally, differences are limited so that the sequences of the reference polypeptide and the variant are closely similar overall and, in many regions, identical. A variant and reference polypeptide may differ in amino acid sequence by one or more substitutions, additions, deletions in any combination. A substituted or inserted amino acid residue may or may not be one encoded by the genetic code. A variant of a polynucleotide or polypeptide may be a naturally occurring such as an allelic variant, or it may be a variant that is not known to occur naturally. Non-naturally occurring variants of polynucleotides and polypeptides may be made by mutagenesis techniques or by direct synthesis.

"Isolated" means altered "by the hand of man" from its natural state, *i.e.*, if it occurs in nature, it has been changed or removed from its original environment, or both. For example, a polynucleotide or a polypeptide naturally present in a living organism is not "isolated," but the same polynucleotide or polypeptide separated from the coexisting materials of its natural state is "isolated," including, but not limited to, when such polynucleotide or polypeptide is introduced back into a cell.

An "isolated" or "substantially pure" nucleic acid or polynucleotide (e.g., an RNA, DNA or a mixed polymer) is one which is substantially separated from other cellular components that naturally accompany the native polynucleotide in its natural host cell, e.g., ribosomes, polymerases and genomic sequences with which it is naturally associated.

The term embraces a nucleic acid or polynucleotide that (1) has been removed from its naturally occurring environment, (2) is not associated with all or a portion of a polynucleotide in which the "isolated polynucleotide" is found in nature, (3) is operatively linked to a polynucleotide which it is not linked to in nature, or (4) does not occur in

nature. The term "isolated" or "substantially pure" also can be used in reference to recombinant or cloned DNA isolates, chemically synthesized polynucleotide analogs, or polynucleotide analogs that are biologically synthesized by heterologous systems.

However, "isolated" does not necessarily require that the nucleic acid or polynucleotide so described has itself been physically removed from its native environment. For instance, an endogenous nucleic acid sequence in the genome of an organism is deemed "isolated" herein if a heterologous sequence is placed adjacent to the endogenous nucleic acid sequence, such that the expression of this endogenous nucleic acid sequence is altered, for example, increased, decreased or eliminated. In this context, a heterologous sequence is a sequence that is not naturally adjacent to the endogenous nucleic acid sequence, whether or not the heterologous sequence is itself endogenous (originating from the same host cell or progeny thereof) or exogenous (originating from a different host cell or progeny thereof). By way of example, a promoter sequence can be substituted (e.g., by homologous recombination) for the native promoter of a gene in the genome of a host cell, such that this gene has an altered expression pattern. This gene would now become "isolated" because it is separated from at least some of the sequences that naturally flank it.

A nucleic acid is also considered "isolated" if it contains any modifications that do not naturally occur to the corresponding nucleic acid in a genome. For instance, an endogenous coding sequence is considered "isolated" if it contains an insertion, deletion or a point mutation introduced artificially, e.g., by human intervention. An "isolated nucleic acid" also includes a nucleic acid integrated into a host cell chromosome at a heterologous site and a nucleic acid construct present as an episome. Moreover, an "isolated nucleic acid" can be substantially free of other cellular material, or substantially free of culture medium when produced by recombinant techniques, or substantially free of chemical precursors or other chemicals when chemically synthesized.

As used herein "inflammatory mediators" include any compound capable of triggering an inflammatory process. The term inflammation generally refers to the process of reaction of vascularized living tissue to injury. This process includes but is not limited to increased blood flow, increased vascular permeability, and leukocytic exudation. Because leukocytes recruited into inflammatory reactions can release potent enzymes and oxygen free radicals (i.e. inflammatory mediators), the inflammatory response is capable of mediating considerable tissue damage. Examples of inflammatory

mediators include, but are not limited to prostaglandins (*e.g.* PGE₂), leukotrienes (*e.g.* LTB₄), inflammatory cytokines, such as tumour necrosis factor alpha (TNF α), interleukin 1 (IL-1), and interleukin 6 (IL-6); nitric oxide (NO), metalloproteinases, and heat shock proteins.

- 5 As used herein "matrix protein" includes proteins released from cells to form the extracellular matrix of cartilage. The extracellular matrix of cartilage consists of proteoglycans, belonging to several distinct proteoglycan families. These include, but are not limited to, perlecan and the hyalactans, exemplified by aggrecan and versican, and the small leucine-rich family of proteoglycans, including decorin, biglycan and fibromodulin.
- 10 The extracellular matrix also consists of hybrid collagen fibers comprised of three collagen isotypes, namely type II, type IX, and type XI collagens, along with accessory proteins such as cartilage oligomeric matrix protein (COMP), link protein, and fibronectin. Cartilage also contains hyaluronin which forms a noncovalent association with the hyalactins. In addition, a specialized pericellular matrix surrounds the
- 15 chondrocyte which consists of proteoglycans, type VI collagen and collagen receptor proteins, such as anchorin.

- As used herein "matrix degrading enzymes" refers to enzymes able to cleave extracellular matrix proteins. Cartilage extracellular matrix turnover is regulated by matrix metalloproteinases (MMPs) which are synthesized as latent proenzymes that require
- 20 activation in order to degrade cartilage extracellular matrix proteins. Three classes of enzymes are believed to regulate the turnover of extracellular matrix proteins, namely collagenases (including, but not limited to, MMP-13), responsible for the degradation of native collagen fibers, stromelysins (including, but not limited to, MMP-3) which degrade proteoglycan and type IX collagen, and gelatinases (including, but not limited to, MMP-2
- 25 and MMP-9) which degrade denatured collagen. The matrix degrading enzyme group that appears most relevant in cartilage degradation in OA includes a subgroup of metalloproteinases called ADAMTS, because they possess disintegrin and metalloproteinase domains and a thrombospondin motif in their structure. ADAMTS4 (aggrecanase-1) has been reported to be elevated in OA joints and along with ADAMTS-
- 30 5 (aggrecanase-2) have been shown to be expressed in human osteoarthritic cartilage. These enzymes appear to be responsible for aggrecan degradation without MMP participation.

As used herein, "reduce" or "reducing" aggrecanase activity refers to a decrease in any and/or all of the activities associated with at least one naturally occurring aggrecanase, including but not limited to ADAMTS4 and ADAMTS5. For example "reducing" at least one ADAMTS5 activity refers to a decrease in any and/or all of the activities associated with naturally occurring ADAMTS5. By way of example, reducing ADAMTS5 in a mammal activity can be measured after administration of at least one polypeptide capable of binding to ADAMTS5 to a subject and compared with ADAMTS5 activity in the same subject prior to the administration of the polypeptide capable of binding to ADAMTS5 or in comparison to a second subject who is administered placebo.

As used herein, "reducing" at least one ADAMTS5 includes the reduction of at least one or more enzyme activity. A reduction in at least one ADAMTS5 activity includes a complete abrogation of at least one ADAMTS5. Also included within this definition is a reduced amount of at least one enzyme activity. That is, ADAMTS5 may have more than one activity which is maintained the while a second activity of the same enzyme is reduced.

As used herein "diseases associated with cartilage degradation" include, but are not limited to cancer, pain, chronic pain, neuropathic pain, postoperative pain, osteoarthritis, sports injuries, erosive arthritis, rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, Lyme arthritis, juvenile arthritis, ankylosing spondylosis, neuralgia, neuropathies, algesia, nerve injury, ischaemia, neurodegeneration, inflammatory diseases, cartilage degeneration, diseases affecting the larynx, trachea, auditory canal, intervertebral discs, ligaments, tendons, joint capsules or bone development, intervertebral disc degeneration, osteopenia, or periodontal diseases, acute joint injury, and/or a disease related to joint destruction.

As used herein "co-administration" or "co-administering" as used herein refers to administration of two or more compounds to the same patient. Co-administration of such compounds may be simultaneous or at about the same time (e.g., within the same hour) or it may be within several hours or days of one another. For example, a first compound may be administered once weekly while a second compound is co-administered daily.

As used herein "attenuate" or "attenuating" refers to a normalization (i.e., either an increase or decrease) of the amount of matrix degrading enzyme, inflammatory mediator, or matrix protein produced and/or released by a cell, following exposure to a catabolic stimulus. For example, following exposure to IL-1 chondrocyte production of matrix

proteins, such as proteoglycans, are reduced, while production of matrix degrading enzymes (c.g. MMP-13, ADAMTS4) and reactive oxygen species (c.g. NO) are increased. Attenuation refers to the normalization of these diverse responses to levels observed in the absence of a catabolic stimulus.

5 A “domain antibody” or “dAb” may be considered the same as a “single variable domain” which is capable of binding to an antigen. A single variable domain may be a human antibody variable domain, but also includes single antibody variable domains from other species such as rodent (for example, as disclosed in WO 00/29004), nurse shark and Camelid VHH dAbs. Camelid VHH are immunoglobulin single variable domain
10 polypeptides that are derived from species including camel, llama, alpaca, dromedary, and guanaco, which produce heavy chain antibodies naturally devoid of light chains. Such VHH domains may be humanized according to standard techniques available in the art, and such domains are considered to be “domain antibodies.” As used herein VH includes camelid VHH domains.

15 The phrase “single variable domain” refers to an antigen binding protein variable domain (for example, V_H , V_{HH} , V_L) that specifically binds an antigen or epitope independently of a different variable region or domain.

 The term “antigen binding protein” as used herein refers to antibodies, antibody fragments and other protein constructs, such as domains, but not limited to, variable
20 domains and domain antibodies, which are capable of binding to an antigen.

 The antigen binding domain of an antibody comprises two separate regions: a heavy chain variable domain (V_H) and a light chain variable domain (V_L ; which can be either V_K or V_λ). The antigen binding site itself is formed by six polypeptide loops: three
from V_H domain (H1, H2 and H3) and three from V_L domain (L1, L2 and L3).

25 Analysis of the structures and sequences of antibodies has shown that five of the six antigen binding loops (H1, H2, L1, L2, L3) possess a limited number of main-chain conformations or canonical structures (Chothia and Lesk (1987) *J. Mol. Biol.*, **196**: 901; Chothia *et al.* (1989) *Nature*, **342**: 877). The main-chain conformations are determined by (i) the length of the antigen binding loop, and (ii) particular residues, or types of
30 residue, at certain key position in the antigen binding loop and the antibody framework. Analysis of the loop lengths and key residues has enabled us to the predict the main-chain conformations of H1, H2, L1, L2 and L3 encoded by the majority of human antibody

sequences (Chothia *et al.* (1992) *J. Mol. Biol.*, **227**: 799; Tomlinson *et al.* (1995) *EMBO J.*, **14**: 4628; Williams *et al.* (1996) *J. Mol. Biol.*, **264**: 220). Although the H3 region is much more diverse in terms of sequence, length and structure (due to the use of D segments), it also forms a limited number of main-chain conformations for short loop lengths which depend on the length and the presence of particular residues, or types of residue, at key positions in the loop and the antibody framework (Martin *et al.* (1996) *J. Mol. Biol.*, **263**: 800; Shirai *et al.* (1996) *FEBS Letters*, **399**: 1.

Bispecific antibodies comprising complementary pairs of V_H and V_L regions are known in the art. These bispecific antibodies must comprise two pairs of V_H and V_L s, each V_H/V_L pair binding to a single antigen or epitope. Methods described involve hybrid hybridomas (Milstein & Cuello AC, *Nature* 305:537-40), minibodies (Hu *et al.*, (1996) *Cancer Res* 56:3055-3061;), diabodies (Holliger *et al.*, (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 6444-6448; WO 94/13804), chelating recombinant antibodies (CRAbs; Neri *et al.*, (1995) *J. Mol. Biol.* 246, 367-373), bisFcV (e.g. Atwell *et al.*, (1996) *Mol. Immunol.* 33, 1301-1312), "knobs in holes" stabilized antibodies (Carter *et al.*, (1997) *Protein Sci.* 6, 781-788). In each case each antibody species comprises two antigen-binding sites, each fashioned by a complementary pair of V_H and V_L domains. Each antibody is thereby able to bind to two different antigens or epitopes at the same time, with the binding to EACH antigen or epitope mediated by a V_H and its complementary V_L domain. Each of these techniques presents its particular disadvantages; for instance in the case of hybrid hybridomas, inactive V_H/V_L pairs can greatly reduce the fraction of bispecific IgG. Furthermore, most bispecific approaches rely on the association of the different V_H/V_L pairs or the association of V_H and V_L chains to recreate the two different V_H/V_L binding sites. It is therefore impossible to control the ratio of binding sites to each antigen or epitope in the assembled molecule and thus many of the assembled molecules will bind to one antigen or epitope but not the other. In some cases it has been possible to engineer the heavy or light chains at the sub-unit interfaces (Carter *et al.*, 1997) in order to improve the number of molecules which have binding sites to both antigens or epitopes but this never results in all molecules having binding to both antigens or epitopes.

There is some evidence that two different antibody binding specificities might be incorporated into the same binding site, but these generally represent two or more specificities that correspond to structurally related antigens or epitopes or to antibodies

that are broadly cross-reactive. For example, cross-reactive antibodies have been described, usually where the two antigens are related in sequence and structure, such as hen egg white lysozyme and turkey lysozyme (McCafferty et al., WO 92/01047) or to free hapten and to hapten conjugated to carrier (Griffiths AD et al. *EMBO J* 1994 13:14
5 3245-60). In a further example, WO 02/02773 (Abbott Laboratories) describes antibody molecules with "dual specificity." The antibody molecules referred to are antibodies raised or selected against multiple antigens, such that their specificity spans more than a single antigen. Each complementary V_H/V_L pair in the antibodies of WO 02/02773 specifies a single binding specificity for two or more structurally related antigens; the V_H
10 and V_L domains in such complementary pairs do not each possess a separate specificity. The antibodies thus have a broad single specificity which encompasses two antigens, which are structurally related. Furthermore natural autoantibodies have been described that are polyreactive (Casali & Notkins, Ann. Rev. Immunol. 7, 515-531), reacting with at least two (usually more) different antigens or epitopes that are not structurally related. It
15 has also been shown that selections of random peptide repertoires using phage display technology on a monoclonal antibody will identify a range of peptide sequences that fit the antigen binding site. Some of the sequences are highly related, fitting a consensus sequence, whereas others are very different and have been termed mimotopes (Lane & Stephen, Current Opinion in Immunology, 1993, 5, 268-271). It is therefore clear that a
20 natural four-chain antibody, comprising associated and complementary V_H and V_L domains, has the potential to bind to many different antigens from a large universe of known antigens. It is less clear how to create a binding site to two given antigens in the same antibody, particularly those which are not necessarily structurally related.

Protein engineering methods have been suggested that may have a bearing on this.
25 For example it has also been proposed that a catalytic antibody could be created with a binding activity to a metal ion through one variable domain, and to a hapten (substrate) through contacts with the metal ion and a complementary variable domain (Barbas et al., 1993 Proc. Natl. Acad. Sci USA 90, 6385-6389). However in this case, the binding and catalysis of the substrate (first antigen) is proposed to require the binding of the metal ion
30 (second antigen). Thus the binding to the V_H/V_L pairing relates to a single but multi-component antigen.

Methods have been described for the creation of bispecific antibodies from camel antibody heavy chain single domains in which binding contacts for one antigen are created in one variable domain, and for a second antigen in a second immunoglobulin variable domain. However the variable domains were not complementary. Thus a first heavy chain variable domain is selected against a first antigen, and a second heavy chain variable domain against a second antigen, and then both domains are linked together on the same chain to give a bispecific antibody fragment (Conrath *et al.*, *J. Biol. Chem.* 270, 27589-27594). However the camel heavy chain single domains are unusual in that they are derived from natural camel antibodies which have no light chains, and indeed the heavy chain single domains are unable to associate with camel light chains to form complementary V_H and V_L pairs.

Single heavy chain variable domains have also been described, derived from natural antibodies which are normally associated with light chains (from monoclonal antibodies or from repertoires of domains; see EP-A-0368684). These heavy chain variable domains have been shown to interact specifically with one or more related antigens but have not been combined with other heavy or light chain variable domains to create a ligand with a specificity for two or more different antigens. Furthermore, these single domains have been shown to have a very short *in vivo* half-life. Therefore such domains are of limited therapeutic value.

It has been suggested to make bispecific antibody fragments by linking heavy chain variable domains of different specificity together (as described above). The disadvantage with this approach is that isolated antibody variable domains may have a hydrophobic interface that normally makes interactions with the light chain and is exposed to solvent and may be "sticky" allowing the single domain to bind to hydrophobic surfaces. Furthermore, in the absence of a partner light chain the combination of two or more different heavy chain variable domains and their association, possibly via their hydrophobic interfaces, may prevent them from binding to one in not both of the ligands they are able to bind in isolation. Moreover, in this case the heavy chain variable domains would not be associated with complementary light chain variable domains and thus may be less stable and readily unfold (Worn & Pluckthun, 1998 *Biochemistry* 37, 13120-7).

As used herein, the term "antibody" includes immunoglobulin molecules comprising four polypeptide chains, two heavy (H) chains and two light (L) chains inter-

connected by disulfide bonds. Each heavy chain is comprised of a heavy chain variable region (abbreviated herein as V_H) and a heavy chain constant region. The heavy chain constant region is comprised of three domains, CH1, CH2 and CH3. Each light chain is comprised of a light chain variable region (abbreviated herein as V_L) and a light chain constant region. The light chains of antibodies (immunoglobulins) from any vertebrate species can be assigned to one of two clearly distinct types, called kappa (κ) and lambda (λ), based on the amino acid sequences of their constant domains. The variable regions of kappa light chains are referred to herein as VK. The expression V_L, as used herein, is intended to include both the variable regions from kappa-type light chains (VK) and from lambda-type light chains. The light chain constant region is comprised of one domain, CL. The V_H and V_L regions include regions of hypervariability, termed complementarity determining regions (CDRs), interspersed with regions that are more conserved, termed framework regions (FR). Each V_H and V_L is composed of three CDRs and four FRs, arranged from amino-terminus to carboxy-terminus in the following order: FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4.

Depending on the amino acid sequence of the constant domain of their heavy chains, antibodies can be assigned to different classes. There are five major classes of intact antibodies: IgA, IgD, IgE, IgG, and IgM, and several of these may be further divided into subclasses (isotypes), *e.g.*, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, and IgA2. The heavy-chain constant domains that correspond to the different classes of antibodies are called α, δ, ε, γ, and μ, respectively. The subunit structures and three-dimensional configurations of different classes of immunoglobulins are well known. The present invention includes antibodies of any of the aforementioned classes or subclasses (isotypes).

The term "antibody" as used herein is also intended to encompass antibodies, digestion fragments, specified portions and variants thereof, including antibody mimetics or comprising portions of antibodies that mimic the structure and/or function of an antibody or specified fragment or portion thereof, including single chain antibodies and fragments thereof; each containing at least one CDR. Functional fragments include antigen binding fragments that bind to an ADAMTS5 antigen. For example, antibody fragments capable of binding to ADAMTS5 or a portion thereof, including, but not limited to Fab (*e.g.*, by papain digestion), fabc (*e.g.*, by plasmin digestion), pFc' (*e.g.*, by pepsin or plasmin digestion), Fd (*e.g.*, by pepsin digestion, partial reduction and reaggregation),

Fv or scFv (*e.g.*, by molecular biology techniques) fragments, are encompassed by the present invention. Antibody fragments are also intended to include, *e.g.*, domain deleted antibodies, diabodies, linear antibodies, single-chain antibody molecules, and multispecific antibodies formed from antibody fragments.

5 The term "monoclonal antibody," as used herein, refers to an antibody obtained from a population of substantially homogeneous antibodies, *e.g.*, the individual antibodies comprising the population are substantially identical except for possible naturally occurring mutations or minor post-translational variations that may be present. Monoclonal antibodies are highly specific, being directed against a single antigenic site. 10 Furthermore, in contrast to conventional (polyclonal) antibody preparations which typically include different antibodies directed against different determinants (epitopes), each monoclonal antibody is directed against a single determinant on the antigen. The modifier "monoclonal" indicates the character of the antibody as being obtained from a substantially homogeneous population of antibodies, and is not to be construed as 15 requiring production of the antibody by any particular method. The monoclonal antibodies of the present invention are preferably made by recombinant DNA methods or are obtained by screening methods as described elsewhere herein.

 The term "monoclonal antibodies," as used herein, includes "chimeric" antibodies (immunoglobulins) in which a portion of the heavy and/or light chain is identical with or 20 homologous to corresponding sequences in antibodies derived from a particular species or belonging to a particular antibody class or subclass, while the remainder of the chain(s) is identical with or homologous to corresponding sequences in antibodies derived from another species (*e.g.*, mouse or rat) or belonging to another antibody class or subclass, as well as fragments of such antibodies, so long as they exhibit the desired biological 25 activity (Morrison *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851-6855 (1984)). Chimeric antibodies of interest herein include "primatized" antibodies comprising variable domain antigen-binding sequences derived from a non-human primate (*e.g.*, Old World Monkey, such as baboon, rhesus or cynomolgus monkey) and human constant region sequences (U.S. Pat. No. 5,693,780).

30 Thus, the present invention includes, for example, chimeric monoclonal antibodies comprising a chimeric heavy chain and/or a chimeric light chain. The chimeric heavy chain may comprise any of the heavy chain variable (V_H) regions described herein or mutants or variants thereof fused to a heavy chain constant region of a non-human or a

human antibody. The chimeric light chain may comprise any of the light chain variable (V_L) regions described herein or mutants or variants thereof fused to a light chain constant region of a non-human or a human antibody.

The term "human antibody," as used herein, includes antibodies having variable
5 and constant regions corresponding to human germline immunoglobulin sequences as described by Kabat et al. (See Kabat, *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). The human antibodies of the invention may include amino acid residues not encoded by human germline immunoglobulin sequences (*e.g.*,
10 mutations introduced by random or site-specific mutagenesis *in vitro* or by somatic mutation *in vivo*), for example in the CDRs and in particular CDR3. The human antibody can have at least one position replaced with an amino acid residue, *e.g.*, an activity enhancing amino acid residue which is not encoded by the human germline immunoglobulin sequence. In the context of the present invention, the human antibody
15 can have up to twenty positions replaced with amino acid residues which are not part of the human germline immunoglobulin sequence. In other embodiments, up to ten, up to five, up to three or up to two positions are replaced. However, the term "human antibody," as used herein, is not intended to include antibodies in which CDR sequences derived from the germline of another mammalian species, such as a mouse, have been
20 grafted onto human framework sequences.

The phrase "recombinant human antibody" includes human antibodies that are prepared, expressed, created or isolated by recombinant means, such as antibodies expressed using a recombinant expression vector transfected into a host cell, antibodies isolated from a recombinant, combinatorial human antibody library, antibodies isolated
25 from an animal that is transgenic for human immunoglobulin genes, or antibodies prepared, expressed, created or isolated by any other means that involves splicing of human immunoglobulin gene sequences to other DNA sequences. Such recombinant human antibodies have variable and constant regions derived from human germline immunoglobulin sequences (See Kabat, E. A., *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). According to the present invention, recombinant human antibodies include human germline immunoglobulin sequence that have been subjected to
30 *in vitro* mutagenesis (or, when an animal transgenic for human Ig sequences is used, *in*

in vivo somatic mutagenesis) and thus the amino acid sequences of the V_H and V_L regions of the recombinant antibodies are sequences that, while derived from and related to human germline V_H and V_L sequences, may not naturally exist within the human antibody germline repertoire *in vivo*. In certain embodiments, however, such recombinant antibodies are the result of selective mutagenesis approach or backmutation or both.

The antibodies of the present invention may be isolated antibodies. An "isolated antibody," as used herein, includes an antibody that is substantially free of other antibodies having different antigenic specificities. Moreover, an isolated antibody may be substantially free of other cellular material and/or chemicals.

Intact antibodies include heteromultimeric glycoproteins comprising at least two heavy and two light chains. Aside from IgM, intact antibodies are usually heterotetrameric glycoproteins of approximately 150Kda, composed of two identical light (L) chains and two identical heavy (H) chains. Typically, each light chain is linked to a heavy chain by one covalent disulfide bond while the number of disulfide linkages between the heavy chains of different immunoglobulin isotypes varies. Each heavy and light chain also has intrachain disulfide bridges. Each heavy chain has at one end a variable domain (V_H) followed by a number of constant regions. Each light chain has a variable domain (V_L) and a constant region at its other end; the constant region of the light chain is aligned with the first constant region of the heavy chain and the light chain variable domain is aligned with the variable domain of the heavy chain. The light chains of antibodies from most vertebrate species can be assigned to one of two types called Kappa and Lambda based on the amino acid sequence of the constant region. Depending on the amino acid sequence of the constant region of their heavy chains, human antibodies can be assigned to five different classes, IgA, IgD, IgE, IgG and IgM. IgG and IgA can be further subdivided into subclasses, IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4; and IgA1 and IgA2. Species variants exist with mouse and rat having at least IgG2a, IgG2b. The variable domain of the antibody confers binding specificity upon the antibody with certain regions displaying particular variability called complementarity determining regions (CDRs). The more conserved portions of the variable region are called Framework regions (FR). The variable domains of intact heavy and light chains each comprise four FR connected by three CDRs. The CDRs in each chain are held together in close proximity by the FR regions and with the CDRs from the other chain contribute to the formation of the antigen binding site of antibodies. The constant regions are not

directly involved in the binding of the antibody to the antigen but exhibit various effector functions such as participation in antibody dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC), phagocytosis via binding to Fcγ receptor, half-life/clearance rate via neonatal Fc receptor (FcRn) and complement dependent cytotoxicity via the C1q component of the
5 complement cascade.

Human antibodies may be produced by a number of methods known to those of skill in the art. Human antibodies can be made by the hybridoma method using human myeloma or mouse-human heteromyeloma cells lines see Kozbor J.Immunol 133, 3001, (1984) and Brodeur, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications,
10 pp51-63 (Marcel Dekker Inc, 1987). Alternative methods include the use of phage libraries or transgenic mice both of which utilize human V region repertoires (see Winter G, (1994), Annu.Rev.Immunol 12,433-455, Green LL (1999), J.Immunol.methods 231, 11-23).

Several strains of transgenic mice are now available wherein their mouse
15 immunoglobulin loci has been replaced with human immunoglobulin gene segments (see Tomizuka K, (2000) PNAS 97,722-727; Fishwild D.M (1996) Nature Biotechnol. 14,845-851, Mendez MJ, 1997, Nature Genetics, 15,146-156). Upon antigen challenge such mice are capable of producing a repertoire of human antibodies from which antibodies of interest can be selected. Of particular note is the Trimer[™] system (see Eren R *et al*,
20 (1998) Immunology 93:154-161) where human lymphocytes are transplanted into irradiated mice, the Selected Lymphocyte Antibody System (SLAM, see Babcook *et al*, PNAS (1996) 93:7843-7848) where human (or other species) lymphocytes are effectively put through a massive pooled *in vitro* antibody generation procedure followed by deconvulated, limiting dilution and selection procedure and the Xenomouse II[™] (Abgenix
25 Inc). An alternative approach is available from Morphotek Inc using the Morphodoma[™] technology.

Phage display technology can be used to produce human antibodies (and fragments thereof), see McCafferty; Nature, 348, 552-553 (1990) and Griffiths AD *et al* (1994) EMBO 13:3245-3260. According to this technique antibody V domain genes are
30 cloned in frame into either a major or minor coat of protein gene of a filamentous bacteriophage such as M13 or fd and displayed (usually with the aid of a helper phage) as functional antibody fragments on the surface of the phage particle. Selections based on

the functional properties of the antibody result in selection of the gene encoding the antibody exhibiting those properties. The phage display technique can be used to select antigen specific antibodies from libraries made from human B cells taken from individuals afflicted with a disease or disorder described above or alternatively from unimmunized human donors (see Marks; J. Mol. Bio. 222,581-597, 1991). Where an intact human antibody is desired comprising a Fc domain it is necessary to reclone the phage displayed derived fragment into a mammalian expression vectors comprising the desired constant regions and establishing stable expressing cell lines.

The technique of affinity maturation (Marks; Bio/technol 10,779-783 (1992)) may be used to improve binding affinity wherein the affinity of the primary human antibody is improved by sequentially replacing the H and L chain V regions with naturally occurring variants and selecting on the basis of improved binding affinities. Variants of this technique such as "epitope imprinting" are now also available see WO 93/06213. See also Waterhouse; Nucl.Acids Res 21, 2265-2266 (1993).

In certain embodiments, the antigen binding proteins of the present invention have an affinity of at least about 5×10^4 liter/mole, 1×10^5 liter/mole, 5×10^5 liter/mole, or 1×10^6 liter/mole as measured by an association constant (K_a). In another embodiment, the antigen binding proteins of the present invention binds to a neutralizing epitope of human ADAMTS5 with a dissociation constant (K_d) of less than about 5×10^{-4} liter/second, 1×10^{-5} liter/second, 5×10^{-5} liter/second, or 1×10^{-6} liter/second.

The use of intact non-human antibodies in the treatment of human diseases or disorders carries with it the potential for the now well established problems of immunogenicity, which is the immune system of the patient may recognize the non-human intact antibody as non-self and mount a neutralizing response. This reaction is particularly evident upon multiple administration of the non-human antibody to a human patient. Various techniques have been developed over the years to overcome these problems and generally involve reducing the composition of non-human amino acid sequences in the intact antibody whilst retaining the relative ease in obtaining non-human antibodies from an immunized animal e.g. mouse, rat or rabbit. Broadly two approaches have been used to achieve this. The first are chimeric antibodies, which generally comprise a non-human (e.g. rodent such as mouse) variable domain fused to a human constant region. Because the antigen-binding site of an antibody is localized within the variable regions the chimeric antibody retains its binding affinity for the antigen but

acquires the effector functions of the human constant region and are therefore able to perform effector functions such as described supra. Chimeric antibodies are typically produced using recombinant DNA methods. DNA encoding the antibodies (e.g. cDNA) is isolated and sequenced using conventional procedures (e.g. by using oligonucleotide probes that are capable of binding specifically to genes encoding the H and L chains of the antibody of the invention, e.g. DNA encoding SEQ.I.D.NO 2, 3, 4, 5, 6 and 7 described supra). Hybridoma cells serve as a typical source of such DNA. Once isolated, the DNA is placed into expression vectors which are then transfected into host cells such as *E. coli*, COS cells, CHO cells or myeloma cells that do not otherwise produce immunoglobulin protein to obtain synthesis of the antibody. The DNA may be modified by substituting the coding sequence for human L and H chains for the corresponding non-human (e.g. murine) H and L constant regions see e.g. Morrison; PNAS 81, 6851 (1984).

The second approach involves the generation of humanized antibodies wherein the non-human content of the antibody is reduced by humanizing the variable regions. Humanized antibodies can be made by CDR grafting. CDRs build loops close to the antibody's N-terminus where they form a surface mounted in a scaffold provided by the framework regions. Antigen-binding specificity of the antibody is mainly defined by the topography and by the chemical characteristics of its CDR surface. These features are in turn determined by the conformation of the individual CDRs, by the relative disposition of the CDRs, and by the nature and disposition of the side chains of the residues comprising the CDRs. A large decrease in immunogenicity can be achieved by grafting only the CDRs of a non-human (e.g. murine) antibodies ("donor" antibodies) onto human framework ("acceptor framework") and constant regions (see Jones *et al* (1986) Nature 321,522-525 and Verhoeyen M *et al* (1988) Science 239, 1534-1536). However, CDR grafting *per se* may not result in the complete retention of antigen-binding properties and it is frequently found that some framework residues (sometimes referred to as "back-mutations") of the donor antibody need to be preserved in the humanized molecule if significant antigen-binding affinity is to be recovered (see Queen C *et al* (1989) PNAS 86, 10,029-10,033, Co, M *et al* (1991) Nature 351, 501-502). In this case, human V regions showing the greatest sequence homology to the non-human donor antibody are chosen from a database in order to provide the human framework (FR). The selection of human FRs can be made either from human consensus or individual human antibodies. Where necessary key residues from the donor antibody are substituted into the human

acceptor framework to preserve CDR conformations. Computer modeling of the antibody maybe used to help identify such structurally important residues, see WO99/48523.

Alternatively, humanization may be achieved by a process of "venecring." A statistical analysis of unique human and murine immunoglobulin heavy and light chain variable regions revealed that the precise patterns of exposed residues are different in human and murine antibodies, and most individual surface positions have a strong preference for a small number of different residues (see Padlan E.A. *et al*; (1991) Mol.Immunol.28, 489-498 and Pedersen J.T. *et al* (1994) J.Mol.Biol. 235; 959-973). Therefore it is possible to reduce the immunogenicity of a non-human Fv by replacing exposed residues in its framework regions that differ from those usually found in human antibodies. Because protein antigenicity may be correlated with surface accessibility, replacement of the surface residues may be sufficient to render the mouse variable region "invisible" to the human immune system (see also Mark G.E. *et al* (1994) in *Handbook of Experimental Pharmacology vol.113: The pharmacology of monoclonal Antibodies*, Springer-Verlag, pp105-134). This procedure of humanization is referred to as "venecring" because only the surface of the antibody is altered, the supporting residues remain undisturbed.

Thus, the present invention provides isolated antigen binding proteins, comprising at least one first immunoglobulin variable domain capable of binding to an aggrecanase. In one embodiment, the aggrecanase is human ADAMTS5. In some instances, the antigen binding protein is an antibody or fragment thereof. In some instances the antibody specifically binds to ADAMTS5. The antibody may be a monoclonal antibody or fragment thereof. In some instances, the monoclonal antibodies or fragment thereof of the present invention are mouse, chimeric, humanized, or fully human.

In another embodiment, the antigen binding protein comprises at least one complementarity determining region. In some instances, the antigen binding protein of the present invention is a monoclonal antibody comprising a heavy chain comprising CDRH1, CDRH2 and CDRH3 and a light chain comprising CDRL1, CDRL2 and CDRL3, wherein the complementarity determining regions (CDRs) of the heavy chain are selected from the group of:

CDRH1 having at least about 80% sequence identity to amino acid sequence DAWMD (SEQ ID NO:2);

CDRH2 having at least about 70, 75, 80, 85, 90, 95, or 98% sequence identity to amino acid sequence EIRHKANDHAIIFYXESVKG (SEQ ID NO:3); and CDRH3 having at least about 70, 75, 80, 85, 90, 95, or 98% sequence identity to amino acid sequence TYYYGSSYGYCDV (SEQ ID NO:4) or PFAY (SEQ ID NO:5); and

the complementarity determining regions of the light chain are selected from the group of:

CDRL1 having at least about 70, 75, 80, 85, 90, 95, or 98% sequence identity to amino acid sequence KASQSVGTTIV (SEQ ID NO:6) or RTSENIYSYLA (SEQ ID NO:7);

CDRL2 having at least about 70, 75, 80, 85, 90, 95, or 98% sequence identity to amino acid sequence NAKTLAE (SEQ ID NO:8) or SASNRXT (SEQ ID NO:9); and

CDRL3 having at least about 70, 75, 80, 85, 90, 95, or 98% sequence identity to amino acid sequence QQYSSYPFT (SEQ ID NO:10) or QIIHYGTPWT ((SEQ ID NO:11).

In one embodiment, CDRH2 has at least about 70, 75, 80, 85, 90, 95, or 98% sequence identity an amino acid sequence selected from EIRHKANDHAIIFYAESVKG (SEQ ID NO:12), EIRNKANNHARHYAESVKG (SEQ ID NO:13), EIRHKANDYAIIFYDESVKG (SEQ ID NO:14), EIRHKANDHAIIFYDESVKG (SEQ ID NO:15), DIRNTANNIATFYAESVKG (SEQ ID NO:16), and EIRHKANDHAIIFYDESVKG (SEQ ID NO:17). In one embodiment, CDRH3 comprises the amino acid sequence, PFAY (SEQ ID NO:5).

In yet another embodiment, the antigen binding proteins of the present invention are monoclonal antibodies comprising a heavy chain comprising CDRH1, CDRH2 and CDRH3 and a light chain comprising CDRL1, CDRL2 and CDRL3, wherein the complementarity determining regions (CDRs) of the heavy chain are selected from:

CDRH1 is amino acid sequence DAWMD (SEQ ID NO:2);
CDRH2 is select from amino acid sequence EIRHKANDHAIIFYAESVKG (SEQ ID NO:12), EIRNKANNHARHYAESVKG (SEQ ID NO:13), EIRHKANDYAIIFYDESVKG (SEQ ID NO:14),

EIRHKANDHAIFYDESVKG (SEQ ID NO:15),
 DIRNTANNHATFYAESVKG (SEQ ID NO:16), or
 EIRHKANDHAIFYDESVKG (SEQ ID NO:17); and
 CDRII3 is TYYYGSSYGYCDV (SEQ ID NO:18) or
 5 PFAY (SEQ ID NO:5); and
 the complementarity determining regions of the light chain are selected from:

CDRL1 is select from amino acid sequence KASQSVGTTIV (SEQ ID
 NO:19), RTSENIYSYLA (SEQ ID NO:20), or KASQNVGTAVV (SEQ ID
 10 NO:21);
 CDRL2 is select from amino acid sequence NAKTLAE (SEQ ID NO:22),
 SASNRHT (SEQ ID NO:23), SASTRYT (SEQ ID NO:24), or SASNRYT
 (SEQ ID NO:25); and
 CDRL3 is select from amino acid sequence QQYSSYPFT (SEQ ID NO:26),
 15 QHHYGTPWT (SEQ ID NO:27), QQYVNPFT (SEQ ID NO:28), or
 QQYTSYPFT (SEQ ID NO:29).

Thus, in one embodiment of the present invention, an isolated monoclonal
 antibody is provided comprising six CDRs wherein CDRH1 is DAWMD (SEQ ID NO:2),
 CDRH2 is EIRNKANNHARHYAESVKG (SEQ ID NO:13), and CDRH3 is
 20 TYYYGSSYGYCDV (SEQ ID NO:18) and CDRL1 is RTSENIYSYLA (SEQ ID
 NO:20), CDRL2 is NAKTLAE (SEQ ID NO:22) and CDRL3 is QHHYGTPWT (SEQ ID
 NO:27). In another embodiment of the present invention, an isolated monoclonal
 antibody is provided comprising six CDRs wherein CDRH1 is DAWMD (SEQ ID NO:2),
 CDRH2 is EIRHKANDHAIFYDESVKG (SEQ ID NO:15), and CDRH3 is PFAY (SEQ
 25 ID NO:5) and CDRL1 is KASQSVGTTIV (SEQ ID NO:19), CDRL2 is SASNRHT (SEQ
 ID NO:23) and CDRL3 is QQYTSYPFT (SEQ ID NO:29).

In yet another embodiment, the antigen binding proteins of the present invention
 are monoclonal antibodies comprising a heavy chain comprising CDRH1, CDRH2 and
 CDRH3 and a light chain comprising CDRL1, CDRL2 and CDRL3, wherein the
 30 complementarity determining regions (CDRs) of the heavy chain are selected from:

CDRH1 is amino acid sequence DAWMD (SEQ ID NO:2), wherein any
 amino acid of SEQ ID NO: 2 is substituted at one position by an amino acid
 selected from histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine,

threonine, tryptophan, valine, alanine, arginine, aspartic acid, cysteine, cystine, glutamic acid, glutamine, glycine, ornithine, proline, serine, taurine, and tyrosine;

- CDRII2 is select from amino acid sequence EIRHKANDHAIIFYAESVKG (SEQ ID NO:12), EIRNKANNHARHYAESVKG (SEQ ID NO:13), EIRHKANDYAIIFYDESVKG (SEQ ID NO:14), EIRHKANDHAIIFYDESVKG (SEQ ID NO:15), DIRNTANNHATIFYAESVKG (SEQ ID NO:16), or EIRHKANDHAIIFYDESVKG (SEQ ID NO:17), wherein any amino acid of SEQ ID NOS: 12-17 is substituted at one position by an amino acid selected from histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan, valine, alanine, arginine, aspartic acid, cysteine, cystine, glutamic acid, glutamine, glycine, ornithine, proline, serine, taurine, and tyrosine; and
- CDRH3 is TYYYGSSYGYCDV (SEQ ID NO:18) or PFAY (SEQ ID NO:5), wherein any amino acid of SEQ ID NOS: 18 and 5 is substituted at one position by an amino acid selected from histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan, valine, alanine, arginine, aspartic acid, cysteine, cystine, glutamic acid, glutamine, glycine, ornithine, proline, serine, taurine, and tyrosine; and
- the complementarity determining regions of the light chain are selected from:

- CDRL1 is select from amino acid sequence KASQSVGITIV (SEQ ID NO:19), RTSENIYSYLA (SEQ ID NO:20), or KASQNVGTAVV (SEQ ID NO:21), wherein any amino acid of SEQ ID NO: 19-21 is substituted at one position by an amino acid selected from histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan, valine, alanine, arginine, aspartic acid, cysteine, cystine, glutamic acid, glutamine, glycine, ornithine, proline, serine, taurine, and tyrosine;
- CDRL2 is select from amino acid sequence NAKTLAE (SEQ ID NO:22), SASNRHT (SEQ ID NO:23), SASTRYT (SEQ ID NO:24), or SASNRYT (SEQ ID NO:25), wherein any amino acid of SEQ ID NO: 22-25 is substituted at one position by an amino acid selected from histidine,

isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan, valine, alanine, arginine, aspartic acid, cysteine, cystine, glutamic acid, glutamine, glycine, ornithine, proline, serine, taurine, and tyrosine; and CDRL3 is select from amino acid sequence QQYSSYPFT (SEQ ID NO:26),
 5 QHHYGTPWT (SEQ ID NO:27), QQYVNYPT (SEQ ID NO:28), or QQYTSYPFT (SEQ ID NO:29), wherein any amino acid of SEQ ID NO: 26-29 is substituted at one position by an amino acid selected from histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan, valine, alanine, arginine, aspartic acid, cysteine, cystine, glutamic acid,
 10 glutamine, glycine, ornithine, proline, serine, taurine, and tyrosine.

In certain embodiments, Thr4 of NAKTLAE (SEQ ID NO:22) is leucine, isoleucine or methionine. In certain embodiments, His3 of QHHYGTPWT (SEQ ID NO:27) is valine. In certain embodiments, Gly5 of QHHYGTPWT (SEQ ID NO:27) is tryptophan, tyrosine, phenylalanine, or methionine. In certain embodiments, His9 of
 15 EIRNKANNHARHYAESVKG (SEQ ID NO:13) is phenylalanine or tyrosine. In certain embodiments, Ser6 of TYYYGSSYGYCDV (SEQ ID NO:18) is phenylalanine or tyrosine.

The CDRs L1, L2, L3, H1 and H2 tend to structurally exhibit one of a finite number of main chain conformations. The particular canonical structure class of a CDR is
 20 defined by both the length of the CDR and by the loop packing, determined by residues located at key positions in both the CDRs and the framework regions (structurally determining residues or SDRs). Martin and Thornton (1996; J Mol Biol 263:800-815) have generated an automatic method to define the "key residue" canonical templates. Cluster analysis is used to define the canonical classes for sets of CDRs, and canonical
 25 templates are then identified by analysing buried hydrophobics, hydrogen-bonding residues, and conserved glycines and prolines. The CDRs of antibody sequences can be assigned to canonical classes by comparing the sequences to the key residue templates and scoring each template using identity or similarity matrices.

Examples of CDR canonicals within the scope of the invention are given below.
 30 The amino acid numbering used is Kabat.

Examples of canonicals for CDRH1 as set out in SEQ ID NO:144, or a variant thereof are: Ala 32 is substituted for Ile, His, Tyr, Phe, Thr, Asn, Cys, Glu or Asp; Trp 33

is substituted for Tyr, Ala, Gly, Thr, Leu or Val; Met 34 is substituted for Ile, Val or Trp; and Asp 35 is substituted for His, Glu, Asn, Gln, Ser, Tyr or Thr.

Examples of canonicals for CDRH2 as set out in SEQ ID NO:144, or a variant thereof are: Glu 50 is substituted for Arg or Gln; and Ile 51 is substituted for Leu, Val, Thr, Ser or Asn.,

Examples of canonicals for CDRH3 as set out in SEQ ID NO:144, or a variant thereof are: Tyr 102 is substituted for His, Val, Ile, Ser, Asp or Gly.

Examples of canonicals for CDRL1 as set out in SEQ ID NO:146, or a variant thereof are: Ser 28 is substituted for Asn, Asp, Thr or Glu; Val 29 is substituted for Ile; Gly 30 is substituted for Asp, Leu, Tyr, Val, Ile, Ser, Asn, Phe, His or Thr; Thr 31 is substituted for Ser, Asn, Lys or Gly; Thr 32 is substituted for Phe, Tyr, Asn, Ala, His, Ser or Arg; Ile 33 is substituted for Met, Leu, Val or Phe; and Val 34 is substituted for Ala, Gly, Asn, Ser, His or Phe.

Examples of canonicals for CDRL3 as set out in SEQ ID NO:146, or a variant thereof are: Gln 89 is substituted for Ser, Gly, Phe or Leu; Gln 90 is substituted for Asn or His; Tyr 91 is substituted for Asn, Phe, Gly, Ser, Arg, Asp, His, Thr or Val; Thr 92 is substituted for Asn, Tyr, Trp, Ser, Arg, Gln, His, Ala or Asp; Ser 93 is substituted for Gly, Asn, Thr, Arg, Glu, Ala or His; Tyr 94 is substituted for Asp, Thr, Val, Leu, His, Asn, Ile, Trp, Pro or Ser; and Phe 96 is substituted for Pro, Leu, Tyr, Arg, Ile or Trp.

In other aspects the antigen binding protein is a Fab or F(ab)₂ fragment. In another embodiment, the first immunoglobulin variable domain is a single chain variable domain.

In one embodiment of the present invention there is provided an antibody according to the invention described herein and comprising a constant domain region such that the antibody has reduced ADCC and/or complement activation or effector functionality. In one such embodiment the constant domain may comprise a naturally disabled constant region of IgG2 or IgG4 isotype or a mutated IgG1 constant domain. Examples of suitable modifications are described in EP0307434. One example comprises the substitutions of alanine residues at positions 235 and 237 (EU index numbering). In one embodiment, such an antibody comprises the heavy chain of SEQ ID NO:158.

In one embodiment the antigen binding protein or a fragment thereof comprises an antibody V_H domain comprising an amino acid sequence selected from the group

consisting of SEQ ID NO: 76, 80, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 136, 138, 140, 142, and 144.

In one embodiment the antigen binding protein or a fragment thereof comprises an antibody V_L domain comprising an amino acid sequence selected from the group
5 consisting of SEQ ID NO: 78, 82, 130, 132, 134, and 146.

In one embodiment the antigen binding protein or a fragment thereof comprises an antibody V_H domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 76, 80, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 136, 138, 140, 142, and 144 and a V_L domain comprising an amino acid sequence selected from the group
10 consisting of SEQ ID NO: 78, 82, 130, 132, 134, and 146.

In one embodiment the antigen binding protein or a fragment thereof comprises an antibody V_H domain comprising SEQ ID NO: 76 and a V_L domain comprising SEQ ID NO: 78.

In one embodiment the antigen binding protein or a fragment thereof comprises an antibody V_H domain comprising SEQ ID NO: 80 and a V_L domain comprising SEQ ID
15 NO: 82.

In one embodiment the antigen binding protein or a fragment thereof comprises an antibody V_H domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 116, 118, 120, 122, 124, 126, and 128 and a V_L domain
20 comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 130, 132, and 134.

In one embodiment the antigen binding protein or a fragment thereof comprises an antibody V_H domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 136, 138, 140, 142, and 144 and a V_L domain comprising SEQ
25 ID NO: 146.

In one embodiment the antigen binding protein or a fragment thereof comprises an antibody heavy chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 68, 72, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 104, 106, 108, 110, 112, and
30 158.

In one embodiment the antigen binding protein or a fragment thereof comprises an antibody light chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 70, 74, 98, 100, 102, and 114.

In one embodiment the antigen binding protein or a fragment thereof comprises an antibody heavy chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 68, 72, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 104, 106, 108, 110, 112, and 158 and an antibody light chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 70, 74, 98, 100, 102, and 114.

In one embodiment the antigen binding protein or a fragment thereof comprises an antibody heavy chain comprising SEQ ID NO: 68 and an antibody light chain comprising SEQ ID NO: 70.

In one embodiment the antigen binding protein or a fragment thereof comprises an antibody heavy chain comprising SEQ ID NO: 72 and an antibody light chain comprising SEQ ID NO: 74.

In one embodiment the antigen binding protein or a fragment thereof comprises an antibody heavy chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 84, 86, 88, 90, 92, 94, and 96 and an antibody light chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 98, 100, and 102.

In one embodiment the antigen binding protein or a fragment thereof comprises an antibody heavy chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 104, 106, 108, 110, 112, and 158 and an antibody light chain comprising SEQ ID NO: 114.

Another aspect of the invention includes an antibody that competes for binding to ADAMTS5 with any one of the antibodies listed in Table 3. These include the antibodies 1G10.1C9, 2D3.1D4, 3A12.1D7, 5F10.1H6, 11F12.1D12, 12F4.1H7, and 7B4.1E11.

In yet another embodiment, the antigen binding protein further comprises a second immunoglobulin variable domain, capable of binding to a second antigen. The second immunoglobulin variable domain may bind to an antigen which may act as a carrier upon administration of the antigen binding peptide. For instance, the second immunoglobulin variable domain may bind a blood protein such as, but not limited to, human serum albumin or transferrin. Additionally, the second immunoglobulin variable domain may bind to an antigen associated with modulation of pain in a mammal such as, but not limited to, nerve growth factor (NGF), vasoactive intestinal peptide (VIP), and/or TRPV1 or other vanilloid receptor. Additionally, the second immunoglobulin variable domain may bind to a cytokine or cytokine receptor associated with inflammatory response and/or

autoimmune disease such as, but not limited to, oncostatin M (OSM), TNF- α , IL-6, TRPV4, RANKL and IL-1. The second antigen may also bind to a second aggrecanase, such as, but not limited to ADAMTS4 and/or ADAMTS5, and/or a second epitope on ADAMTS5 and/or a number of metalloproteases such as but not limited to MMP-13.

- 5 The second immunoglobulin variable domain may also bind to aggrecan, collagen II, proteoglycan or other molecules associated with cartilage. In one aspect of the present invention, the second immunoglobulin variable domain binds to one an antigen selected from the group of: human serum albumin, ADAMTS4, NGF, OSM, TNF- α , IL-6, VIP, TRPV1, TRPV4, ADAMTS1, aggrecan, Collagen II, Syndecan 4, Hedgehog, and/or IL-1.
- 10

- Delgado, et al. *Nature Med.* 7, 563–568 report that VIP treatment suppresses production of pro-inflammatory mediators, as well as expression of the metalloproteinase gelatinase (MMP-2). MMP-2 is believed to contribute to joint destruction in paws of arthritic mice. *In vitro* studies indicate that VIP may act directly on synoviocytes,
- 15 although an indirect action could also be mediated through enhanced production of Th2 cytokines. Nonetheless, VIP appears to affect synovial function at multiple levels in the CIA mouse model. The peptide suppresses Th1 function and but increases Th2 function, possibly 'rebalancing' the immune system. Moreover, VIP has direct and indirect effects on macrophages and synoviocytes, leading to decreased expression of IL-1, TNF- α ,
- 20 chemokines and matrix-degrading enzymes, protecting joint integrity. Firestein *Nature Medicine* 7, 537 - 538 (2001).

- Vasoactive intestinal peptide (VIP) was identified in the synovial fluid of arthritis patients nearly 20 years ago and the aim of this study was to examine whether VIP could be involved in the generation of OA pain. Hindlimb weight bearing was used as a
- 25 measure of joint pain, while von Frey hair algosimetry applied to the plantar surface of the ipsilateral hindpaw tested for secondary mechanical hyperalgesia. Intra-articular injection of VIP into normal rat knee joints caused a significant shift in weight bearing in favor of the contralateral non-injected hindlimb as well as causing a reduction in ipsilateral paw withdrawal threshold. These pain responses were blocked by co-
- 30 administration of a VPAC receptor antagonist. Antagonists that inhibit VIP activity may prove beneficial in the alleviation of OA pain. McDougall, et al. *Pain* 2006 Jul;123(1-2):98-105.

Nerve growth factor (NGF) was the first neurotrophin to be identified, and its role in the development and survival of both peripheral and central neurons has been well characterized. NGF has been shown to be a critical survival and maintenance factor in the development of peripheral sympathetic and embryonic sensory neurons and of basal forebrain cholinergic neurons. Smeyne *et al.*, *Nature* 368:246-249 (1994) and Crowley *et al.*, *Cell* 76:1001-1011 (1994). NGF up-regulates expression of neuropeptides in sensory neurons (Lindsay and Harmer, *Nature* 337:362-364 (1989)) and its activity is mediated through two different membrane-bound receptors, the TrkA receptor and the p75 common neurotrophin receptor (sometimes termed "high affinity" and "low affinity" NGF receptors, respectively). Chao *et al.*, *Science* 232:518-521 (1986). For review on NGF, see Huang *et al.*, *Annu. Rev. Neurosci.* 24:677-736 (2001); Bibel *et al.*, *Genes Dev.* 14:2919-2937 (2000). The crystal structure of NGF and NGF in complex with the trkA receptor have been determined. See *Nature* 254:411 (1991); *Nature* 401:184-188 (1996).

Oncostatin M is a 28 KDa glycoprotein that belongs to the interleukin 6 (IL-6) family of cytokines which includes IL-6, Leukemia Inhibitory Factor (LIF), ciliary neurotrophic factor (CNTF), cardiotropin-1 (CT-1) and cardiotrophin-1 like cytokine (See Kishimoto T *et al* (1995) *Blood* 86: 1243-1254), which share the gp130 transmembrane signalling receptor (See Taga T and Kishimoto T (1997) *Annu. Rev. Immunol.* 15: 797-819). OSM was originally discovered by its ability to inhibit the growth of the melanoma cell line A375 (See Malik N (1989) *et al* *Mol Cell Biol* 9: 2847-2853). Subsequently, more effects were discovered and it was found to be a multifunctional mediator like other members of the IL-6 family. OSM is produced in a variety of cell types including macrophages, activated T cells (See Zarling JM (1986) *PNAS (USA)* 83: 9739-9743), polymorphonuclear neutrophils (See Grenier A *et al* (1999) *Blood* 93:1413-1421), eosinophils (See Tamura S *et al* (2002) *Dev. Dyn.* 225: 327-31), dendritic cells (See Suda T *et al* (2002) *Cytokine* 17:335-340). It is also expressed in pancreas, kidney, testes, spleen stomach and brain (See Znoyko I *et al* (2005) *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 283: 182-186), and bone marrow (See Psenak O *et al* (2003) *Acta Haematol* 109: 68-75). Its principle biological effects include activation of endothelium (See Brown TJ *et al* (1993) *Blood* 82: 33-7), activation of the acute phase response (See Benigni F *et al* (1996) *Blood* 87: 1851-1854), induction of cellular proliferation or differentiation, modulation of inflammatory mediator release and haematopoiesis (See Tanaka M *et al* (2003) 102: 3154-3162), re-modelling of bone (See de Hooge ASK (2002) *Am J Pathol* 160: 1733-1743).

and, promotion of angiogenesis (See Vasse M et al (1999) *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:1835-1842) and wound healing.

The cytokine known as tumor necrosis factor- α (TNF α ; also termed cachectin) is a protein secreted primarily by monocytes and macrophages in response to endotoxin or
5 other stimuli as a soluble homotrimer of 17 kD protein subunits (Smith, R. A. et al., *J. Biol. Chem.* 262:6951-6954 (1987)). A membrane-bound 26 kD precursor form of TNF has also been described (Kriegler, M. et al., *Cell* 53:45-53 (1988)).

Accumulating evidence indicates that TNF is a regulatory cytokine with pleiotropic biological activities. These activities include: inhibition of lipoprotein lipase
10 synthesis ("cachectin" activity) (Beutler, B. et al., *Nature* 316:552 (1985)), activation of polymorphonuclear leukocytes (Klebanoff, S. J. et al., *J. Immunol.* 136:4220 (1986); Perussia, B., et al., *J. Immunol.* 138:765 (1987)), inhibition of cell growth or stimulation of cell growth (Vileck, J. et al., *J. Exp. Med.* 163:632 (1986); Sugarman, B. J. et al., *Science* 230:943 (1985); Lachman, L. B. et al., *J. Immunol.* 138:2913 (1987)), cytotoxic
15 action on certain transformed cell types (Lachman, L. B. et al., *supra*; Darzynkiewicz, Z. et al., *Canc. Res.* 44:83 (1984)), antiviral activity (Kohase, M. et al., *Cell* 45:659 (1986); Wong, G. H. W. et al., *Nature* 323:819 (1986)), stimulation of bone resorption (Bertolini, D. R. et al., *Nature* 319:516 (1986); Saklatvala, J., *Nature* 322:547 (1986)), stimulation of collagenase and prostaglandin E2 production (Dayer, J.-M. et al., *J. Exp. Med.* 162:2163
20 (1985)); and immunoregulatory actions, including activation of T cells (Yokota, S. et al., *J. Immunol.* 140:531 (1988)), B cells (Kehrl, J. H. et al., *J. Exp. Med.* 166:786 (1987)), monocytes (Philip, R. et al., *Nature* 323:86 (1986)), thymocytes (Ranges, G. E. et al., *J. Exp. Med.* 167:1472 (1988)), and stimulation of the cell-surface expression of major histocompatibility complex (MHC) class I and class II molecules (Collins, T. et al., *Proc.*
25 *Natl. Acad. Sci. USA* 83:446 (1986); Pujol-Borrel, R. et al., *Nature* 326:304 (1987)).

Interleukin-6 (IL-6) is a 22 to 27 kDa secreted glycoprotein which exhibits growth stimulatory and proinflammatory activities. IL-6 is also known as interferon- β 2 (IFN- β 2), IL-1 inducible 26-kDa protein, hepatocyte-stimulating factor, cytotoxic T-cell
30 differentiation factor, and B-cell stimulatory factor. (Tripathi et al., *Clin. Cancer Res.* 9:4653-4665 (2003)). IL-6 is secreted by various cell types. IL-6 exerts its activities through binding to a high-affinity receptor complex consisting of two membrane glycoproteins: an 80 kDa component receptor that binds IL-6 with low affinity (IL-6R) and a signal-transducing component of 130 kDa (gp130) that does not bind IL-6 by itself,

but is required for high-affinity binding of IL-6 by the complex. IL-6R can be cleaved by a transmembrane metalloproteinase to yield the soluble IL-6R.

RANK is a member of the TNF receptor superfamily; it most closely resembles CD40 in the extracellular region. Similar to CD40, RANK associates with TRAF2 and TRAF3 (as determined by co-immunoprecipitation assays substantially as described by Rothe et al., Cell 83:1243, 1995). TRAFs are critically important in the regulation of the immune and inflammatory response. Through their association with various members of the TNF receptor superfamily, a signal is transduced to a cell. That signal results in the proliferation, differentiation or apoptosis of the cell, depending on which receptor(s) is/are triggered and which TRAF(s) associate with the receptor(s); different signals can be transduced to a cell via coordination of various signaling events. Thus, a signal transduced through one member of this family may be proliferative, differentiative or apoptotic, depending on other signals being transduced to the cell, and/or the state of differentiation of the cell. Such exquisite regulation of this proliferative/apoptotic pathway is necessary to develop and maintain protection against pathogens; imbalances can result in autoimmune disease.

RANK is expressed on epithelial cells, some B cell lines, and on activated T cells. However, its expression on activated T cells is late, about four days after activation. This time course of expression coincides with the expression of Fas, a known agent of apoptosis. RANK may act as an anti-apoptotic signal, rescuing cells that express RANK from apoptosis as CD40 is known to do. Alternatively, RANK may confirm an apoptotic signal under the appropriate circumstances, again similar to CD40. RANK and its ligand are likely to play an integral role in regulation of the immune and inflammatory response.

The ligand, which is referred to as RANKL, is a Type 2 transmembrane protein with an intracellular domain of less than about 50 amino acids, a transmembrane domain and an extracellular domain of from about 240 to 250 amino acids. Similar to other members of the TNF family to which it belongs, RANKL has a 'spacer' region between the transmembrane domain and the receptor binding domain that is not necessary for receptor binding. Accordingly, soluble forms of RANKL can comprise the entire extracellular domain or fragments thereof that include the receptor binding region.

TRPV4 channel receptor is one of six known members of the vanilloid family of transient receptor potential channels and shares 51% identity at the nucleotide level with TRPV1, the capsaicin receptor. Examples of polypeptides and polynucleotides encoding

forms of human vanilloid receptors, including TRPV4 channel receptor from human, can be found in EP 1170365 as well as WO 00/32766. Like the other family members, TRPV4 channel receptor is a Ca^{2+} permeable, non-selective, ligand-gated cation channel, which is responsive to diverse stimuli such as reduced osmolality, elevated temperature, and small molecule ligands. See, for instance, Voets, et al., J. Biol. Chem. (2002) 277:33704-47051; Watanabe, et al., J. Biol. Chem. (2002) 277:47044-47051; Watanabe, et al., J. Biol. Chem. (2002) 277:13569-47051; Xu, et al., J. Biol. Chem. (2003) 278:11520-11527. From a screen of body tissues, the human TRPV4 channel receptor is most prominently expressed in cartilage. A screen of primary and clonal cell cultures shows significant expression only in chondrocytes.

Such responses are also evoked by structural analogues of capsaicin that share a common vanilloid moiety. One such analogue is resiniferatoxin (RTX), a natural product of Euphorbia plants. The term vanilloid receptor (VR) was coined to describe the neuronal membrane recognition site for capsaicin and such related irritant compounds. The capsaicin response is competitively inhibited (and thereby antagonized) by another capsaicin analog, capsazepine, and is also inhibited by the non-selective cation channel blocker ruthenium red. These antagonists bind to VR with no more than moderate affinity (typically with K_i values of no lower than $140\mu\text{M}$).

Recently, rat and human receptors for capsaicin were cloned from dorsal root ganglion cells. Such receptors have also been referred to as VR1, and the terms "VR1" and "capsaicin receptor" are used interchangeably herein to refer to rat and/or human receptors of this type, as well as mammalian homologs. The role of VR1 in pain sensation has been confirmed using mice lacking this receptor, which exhibit no vanilloid-evoked pain behavior, and impaired responses to heat and inflammation. The capsaicin receptor is a nonselective cation channel with a threshold for opening that is lowered in response to elevated temperatures, low pH, and capsaicin receptor agonists. For example, the channel usually opens at temperatures higher than about 45°C . Opening of the capsaicin receptor channel is generally followed by the release of inflammatory peptides from neurons expressing the receptor and other nearby neurons, increasing the pain response. After initial activation by capsaicin, the capsaicin receptor undergoes a rapid desensitization via phosphorylation by cAMP-dependent protein kinase.

The antigen binding protein of the present invention can be characterized by a dissociation constant equal or less than about 9.0×10^{-9} M for human ADAMTS5, in some instances it is less than or equal to about 2.5×10^{-10} M. Antigen binding protein affinity for a target such as human ADAMTS5 can be measured by surface plasmon resonance such as but not limited to BIACORE or Octet. BIAcore kinetic analysis can be used to determine the binding on and off rates of antibodies or fragments thereof to a ADAMTS5 antigen. BIAcore kinetic analysis comprises analyzing the binding and dissociation of a ADAMTS5 antigen from chips with immobilized antibodies or fragments thereof on their surface (see the Example section infra).

The present invention also provides antigen binding proteins that block and/or reduce at least one activity ADAMTS5. In some instances, the antigen binding proteins of the present invention blocks and/or reduces the cleavage of aggrecan by ADAMTS5 at the Glu³⁷³-Ala³⁷⁴ cleavage site. In some aspects, the antigen binding proteins of the present invention are capable of penetrating cartilage, even when administered by a non-articular route of administration. For instance, the antigen binding proteins of the present invention may be administered intravenously, intramuscularly, intraarticularly, subcutaneously, orally, intranasally, and/or by peritoneal administration.

Also provided in the present invention are isolated polynucleotides encoding an antigen binding protein of this invention.

In one embodiment the isolated polynucleotide encodes an antigen binding protein or a fragment thereof comprising an antibody V_H domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 76, 80, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 136, 138, 140, 142, and 144. In one embodiment the isolated polynucleotide is selected from the group consisting of SEQ ID NO: 75, 79, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 135, 137, 139, 141, 143, and 159. In one embodiment the polypeptide is an antibody produced from a cell expressing a polynucleotide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 75, 79, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 135, 137, 139, 141, 143, and 159.

In one embodiment the isolated polynucleotide encodes an antigen binding protein or a fragment thereof comprising an antibody V_L domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 78, 82, 130, 132, 134, and 146. In one embodiment the isolated polynucleotide is selected from the group consisting

of SEQ ID NO: 77, 81, 129, 131, 133, and 145. In one embodiment the polypeptide is an antibody produced from a cell expressing a polynucleotide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 77, 81, 129, 131, 133, and 145.

In one embodiment the isolated polynucleotide encodes an antigen binding protein or a fragment thereof comprising an antibody heavy chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 68, 72, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 104, 106, 108, 110, 112, and 158. In one embodiment the isolated polynucleotide is selected from the group consisting of SEQ ID NO: 67, 71, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 103, 105, 107, 109, 111, and 159. In one embodiment the polypeptide is an antibody produced from a cell expressing a polynucleotide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 67, 71, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 103, 105, 107, 109, 111, and 159.

In one embodiment the isolated polynucleotide encodes an antigen binding protein or a fragment thereof comprising an antibody light chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 70, 74, 98, 100, 102, and 114. In one embodiment the isolated polynucleotide is selected from the group consisting of SEQ ID NO: 69, 73, 97, 99, 101, and 115. In one embodiment the polypeptide is an antibody produced from a cell expressing a polynucleotide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 69, 73, 97, 99, 101, and 115.

Also provided are host cells comprising the polynucleotides encoding the antigen binding proteins of the present invention and methods of expressing the antigen binding proteins from said host cells. In addition, methods are provided for making the antigen binding proteins of the present invention.

Methods of making vectors, host cells and antibodies of the present invention include using conventional expression vectors or recombinant plasmids produced by placing coding sequences for the antibody in operative association with conventional regulatory control sequences capable of controlling the replication and expression in, and/or secretion from, a host cell. Regulatory sequences include promoter sequences, e.g., CMV promoter, and signal sequences, which can be derived from other known antibodies. Similarly, a second expression vector can be produced having a DNA sequence which encodes a complementary antibody light or heavy chain. Preferably this second expression vector is identical to the first except insofar as the coding sequences and selectable markers are concerned, so to ensure as far as possible that each polypeptide

chain is functionally expressed. Alternatively, the heavy and light chain coding sequences for the altered antibody may reside on a single vector.

A selected host cell is co-transfected by conventional techniques with both the first and second vectors (or simply transfected by a single vector) to create the transfected
5 host cell of the invention comprising both the recombinant or synthetic light and heavy chains. The transfected cell is then cultured by conventional techniques to produce the engineered antibody of the invention. The antibody which includes the association of both the recombinant heavy chain and/or light chain is screened from culture by appropriate assay, such as ELISA or RIA. Similar conventional techniques may be
10 employed to construct other altered antibodies and molecules.

Suitable vectors for the cloning and subcloning steps employed in the methods and construction of the compositions of this invention may be selected by one of skill in the art. For example, the conventional pUC series of cloning vectors may be used. One vector, pUC19, is commercially available from supply houses, such as Amersham
15 (Buckinghamshire, United Kingdom) or Pharmacia (Uppsala, Sweden). Additionally, any vector which is capable of replicating readily, has an abundance of cloning sites and selectable genes (e.g., antibiotic resistance), and is easily manipulated may be used for cloning. Thus, the selection of the cloning vector is not a limiting factor in this invention.

Similarly, the vectors employed for expression of the antibodies may be selected
20 by one of skill in the art from any conventional vector. The vectors also contain selected regulatory sequences (such as CMV or RSV promoters) which direct the replication and expression of heterologous DNA sequences in selected host cells. These vectors contain the above described DNA sequences which code for the antibody or altered immunoglobulin coding region. In addition, the vectors may incorporate the selected
25 immunoglobulin sequences modified by the insertion of desirable restriction sites for ready manipulation.

The expression vectors may also be characterized by genes suitable for amplifying expression of the heterologous DNA sequences, e.g., the mammalian dihydrofolate reductase gene (DHFR). Other preferable vector sequences include a poly A signal
30 sequence, such as from bovine growth hormone (BGH) and the betaglobin promoter sequence (betaglopro). The expression vectors useful herein may be synthesized by techniques well known to those skilled in this art.

The components of such vectors, e.g. replicons, selection genes, enhancers, promoters, signal sequences and the like, may be obtained from commercial or natural sources or synthesized by known procedures for use in directing the expression and/or secretion of the product of the recombinant DNA in a selected host. Other appropriate
5 expression vectors of which numerous types are known in the art for mammalian, bacterial, insect, yeast, and fungal expression may also be selected for this purpose.

The present invention also encompasses a cell line transfected with a recombinant plasmid containing the coding sequences of the antibodies or altered immunoglobulin molecules thereof. Host cells useful for the cloning and other manipulations of these
10 cloning vectors are also conventional. However, most desirably, cells from various strains of *E. coli* are used for replication of the cloning vectors and other steps in the construction of altered antibodies of this invention.

Suitable host cells or cell lines for the expression of the antibody of the invention are preferably mammalian cells such as NS0, Sp2/0, CHO (e.g. DG44), COS, a fibroblast
15 cell (e.g., 3T3), and myeloma cells, and more preferably a CHO or a myeloma cell. Human cells may be used, thus enabling the molecule to be modified with human glycosylation patterns. Alternatively, other eukaryotic cell lines may be employed. The selection of suitable mammalian host cells and methods for transformation, culture, amplification, screening and product production and purification are known in the art.
20 See, e.g., Sambrook et al., cited above.

Bacterial cells may prove useful as host cells suitable for the expression of the recombinant Fabs of the present invention (see, e.g., Plückthun, A., *Immunol. Rev.*, 130:151-188 (1992)). However, due to the tendency of proteins expressed in bacterial cells to be in an unfolded or improperly folded form or in a non-glycosylated form, any
25 recombinant Fab produced in a bacterial cell would have to be screened for retention of antigen binding ability. If the molecule expressed by the bacterial cell was produced in a properly folded form, that bacterial cell would be a desirable host. For example, various strains of *E. coli* used for expression are well-known as host cells in the field of biotechnology. Various strains of *B. subtilis*, *Streptomyces*, other bacilli and the like may
30 also be employed in this method.

Where desired, strains of yeast cells known to those skilled in the art are also available as host cells, as well as insect cells, e.g. *Drosophila* and *Lepidoptera* and viral

expression systems. See, e.g. Miller et al., Genetic Engineering, 8:277-298, Plenum Press (1986) and references cited therein.

The general methods by which the vectors may be constructed, the transfection methods required to produce the host cells of the invention, and culture methods
5 necessary to produce the antibody of the invention from such host cell are all conventional techniques. Typically, the culture method of the present invention is a serum-free culture method, usually by culturing cells serum-free in suspension. Likewise, once produced, the antibodies of the invention may be purified from the cell culture contents according to standard procedures of the art, including ammonium sulfate
10 precipitation, affinity columns, column chromatography, gel electrophoresis and the like. Such techniques are within the skill of the art and do not limit this invention. For example, preparation of altered antibodies are described in WO 99/58679 and WO 96/16990.

Yet another method of expression of the antibodies may utilize expression in a
15 transgenic animal, such as described in U. S. Patent No. 4,873,316. This relates to an expression system using the animal's casein promoter which when transgenically incorporated into a mammal permits the female to produce the desired recombinant protein in its milk.

In a further aspect of the invention there is provided a method of producing an
20 antibody of the invention which method comprises the step of culturing a host cell transformed or transfected with a vector encoding the light and/or heavy chain of the antibody of the invention and recovering the antibody thereby produced.

In one aspect, the present invention provides a method of inhibiting ADAM and ADAMTS activity by providing a molecule that simultaneously binds both catalytic and
25 disintegrin domains. In certain embodiments the ADAMTS is ADAMTS 4 or ADAMTS5. In silico structure 'best fit' computational modeling using separate crystal structures for ADAMTS5 and the ADAMTS5 mAbs 12F4.1117 and 7B4.1E11 suggest simultaneous antibody/antigen interactions between both the catalytic and disintegrin domains of ADAMTS5. The catalytic and disintegrin domains of ADAM and ADAMTS
30 proteases are separated by a hinge region that imparts flexibility between the domains which may act to regulate function or allow for substrate localization to the catalytic site. The high affinity mAb binding observed at this domain spanning epitope likely 'locks' the catalytic and disintegrin domains of ADAMTS5 together thereby neutralizing

enzymatic activity. In one embodiment, the molecule is an antibody that binds to both the disintegrin and catalytic domains simultaneously. In another embodiment the molecule is an antibody or antibody fragment of the present invention. In another embodiment, the present invention concerns an antibody which neutralizes the enzymatic activity of
5 AMAMTS5, and in which the antibody simultaneously binds to catalytic and disintegrin domains with a KD of less than about 1×10^{-9} or 2×10^{-10} as measured by BiaCore or Octet QK.

In another embodiment of the present invention, pharmaceutical compositions are provided comprising at least one of the antigen binding proteins described herein. The
10 current invention also provides use of at least one antigen binding protein to ADAMTS5 in the manufacture of a medicament for reducing at least one ADAMTS5 activity in a human. The present invention provides use of at least one antigen binding protein to ADAMTS5 for reducing at least one activity of ADAMTS5 in a human comprising administering to a patient in need thereof a composition comprising at least one antigen
15 binding protein to ADAMTS5.

Pharmaceutical compositions of the present invention may further comprises a second antigen binding protein. In some instance the second antigen binding protein may be a monoclonal antibody. In one embodiment, the second monoclonal antibody binds at least one antigen selected from the group of ADAMTS4, ADAMTS5, NGF, OSM, TNF- α ,
20 α , IL-6, VIP, TRPV1, TRPV4, ADAMTS1, Aggrecan, Collagen II, RANKL, and/or IL-1. By way of example, the pharmaceutical compositions of the present invention may comprise a first antigen binding protein, which may be a monoclonal antibody to ADAMTS5 and a second monoclonal antibody, which may also bind ADAMTS5. By way of another example, a pharmaceutical composition of the present invention may
25 comprise a first antigen binding protein, which is a monoclonal antibody that binds to ADAMTS5 and a second antigen binding protein, which is a monoclonal antibody that binds one of the following: ADAMTS4, NGF, OSM, TNF- α , IL-6, VIP, TRPV1, TRPV4, ADAMTS1, Aggrecan, Collagen II, RANKL, and/or IL-1.

Also provided are methods of treating a patient in need thereof comprising
30 administering at least one dose of pharmaceutical composition of the present invention. In some aspects, the patient is suffering from a disease of the cartilage. A patient may be suffering from one or more diseases chosen from the group of: cancer, pain, chronic pain, neuropathic pain, postoperative pain, osteoarthritis, sports injuries, erosive arthritis,

rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, Lyme arthritis, juvenile arthritis, ankylosing spondylosis, neuralgia, neuropathics, algesia, nerve injury, ischaemia, neurodegeneration, inflammatory diseases, cartilage degeneration, diseases affecting the larynx, trachea, auditory canal, intervertebral discs, ligaments, tendons, joint capsules or bone development, intervertebral disc degeneration, osteopenia, or periodontal diseases, acute joint injury, and/or a disease related to joint destruction. In some instances, the patient is suffering from osteoarthritis.

In another embodiment, administering at least one dose of said pharmaceutical composition reduces cartilage degradation in said patient. In another embodiment, administering at least one dose of said pharmaceutical composition inhibits and/or reduces aggrecan cleavage in said patient.

Also provided herein are pharmaceutical compositions capable of treating disease associated with cartilage degradation or alleviating the symptoms produced thereby and formulated for the methods and uses described herein. The present invention provides an ADAMTS5 antibody for use in the treatment of diseases of the cartilage, for administration alone or in combination with at least one other therapeutic, including, but not limited to, at least one steroid and/or analgesic. Antigen-binding proteins of the present invention can be co-administered with other therapeutics in the same dose or separately. The present invention also provides ADAMTS5 antibodies or fragments thereof for all of the methods and uses described herein.

As used herein, "patient" refers to a human or other animal.

As used herein, "treatment" means: (1) the amelioration or prevention of the condition being treated or one or more of the biological manifestations of the condition being treated, (2) the interference with (a) one or more points in the biological cascade that leads to or is responsible for the condition being treated or (b) one or more of the biological manifestations of the condition being treated, or (3) the alleviation of one or more of the symptoms or effects associated with the condition being treated. The skilled artisan will appreciate that "prevention" is not an absolute term. In medicine, "prevention" is understood to refer to the prophylactic administration of a drug to substantially diminish the likelihood or severity of a condition or biological manifestation thereof, or to delay the onset of such condition or biological manifestation thereof.

As used herein, "safe and effective amount" means an amount of at least one antigen binding protein sufficient to significantly induce a positive modification in the condition to be treated but low enough to avoid serious side effects (at a reasonable benefit/risk ratio) within the scope of sound medical judgment. A safe and effective amount of at least one antigen binding protein of the invention will vary with the particular compound chosen (e.g. consider the potency, efficacy, and half-life of the compound); the route of administration chosen; the condition being treated; the severity of the condition being treated; the age, size, weight, and physical condition of the patient being treated; the medical history of the patient to be treated; the duration of the treatment; the nature of concurrent therapy; the desired therapeutic effect; and like factors, but can nevertheless be routinely determined by the skilled artisan.

The antigen binding proteins of the invention may be administered by any suitable route of administration, including both systemic administration and topical administration. Systemic administration includes oral administration, parenteral administration, transdermal administration, rectal administration, and administration by inhalation. Parenteral administration refers to routes of administration other than enteral, transdermal, or by inhalation, and is typically by injection or infusion. Parenteral administration includes intravenous, intramuscular, and subcutaneous injection or infusion, including intraarticular administration. Inhalation refers to administration into the patient's lungs whether inhaled through the mouth or through the nasal passages. Topical administration includes application to the skin as well as intraocular, otic, intravaginal, and intranasal administration.

The antigen binding proteins of the invention may be administered once or according to a dosing regimen wherein a number of doses are administered at varying intervals of time for a given period of time. For example, doses may be administered one, two, three, or four times per day. Doses may be administered until the desired therapeutic effect is achieved or indefinitely to maintain the desired therapeutic effect. Suitable dosing regimens for an antigen binding protein of the invention depend on the pharmacokinetic properties of that compound, such as absorption, distribution, and half-life, which can be determined by the skilled artisan. In addition, suitable dosing regimens, including the duration such regimens are administered, for a compound of the invention depend on the condition being treated, the severity of the condition being

treated, the age and physical condition of the patient being treated, the medical history of the patient to be treated, the nature of concurrent therapy, the desired therapeutic effect, and like factors within the knowledge and expertise of the skilled artisan. It will be further understood by such skilled artisans that suitable dosing regimens may require
5 adjustment given an individual patient's response to the dosing regimen or over time as individual patient needs change.

In certain embodiments the antibody is used to deliver a drug to the cartilage. Such a drug could be an aggrecanase inhibitor, an anti-inflammatory drug, steroid or a drug related to pain management. Accordingly, in one aspect the invention is a method of
10 delivering a drug to cartilage comprising lining the drug to an antibody of the present invention. Such delivery can be conducted in vitro, ex vivo, or in vivo.

In another embodiment the antibody is used to deliver a growth factor to the cartilage which would promote the growth of new cartilage. Such growth factors include Bone Morphogenic proteins, particularly BMP-7. Such delivery can be conducted in
15 vitro, ex vivo, or in vivo.

Examples

The following examples illustrate various aspects of this invention.
20

Example 1 – Production of Mabs to human ADAMTS4 and human ADAMTS5

Human ADAMTS5 and ADAMTS4 proteins were produced in transfected CHO
25 cells and/or BacMam transduced HEK293 cells and isolated by conventional chromatography methods.

SJL mice were co-immunized with purified ADAMTS4 (full length) and ADAMTS5 (truncated, full length, Cat, Cat/dis domains). Immunogenicity was tested on sera from serial bleeds.

Splenocytes and lymph nodes were isolated and fused to mouse myeloma cells using a P3X63/Ag8.653-derived fusion partner. Immortalized antibody producing cells were generated. HAT selection was used to deselect unfused myeloma cells.

Resulting hybridoma supernatants from active cultures were screened for specific binding and neutralization of recombinant human ADAMTS5 and ADAMTS4. Hits were identified, confirmed and cloned to monoclonality either by limiting dilution or growth in semi-solid media.

Monoclonal antibodies with desired characteristics were scaled up in liquid culture and the antibody was purified by standard chromatography methods. Resulting purified antibody clones were then further characterized for binding affinity and functional potency.

Example 2 - Murine Antibodies Characterization

ADAMTS5 mAbs were characterized for neutralization potency using *in vitro* aggrecan substrate cleavage assays (Table 1). ADAMTS5 mAbs were characterized for affinity using both Octet QK (Table 1) and BiaCore (comparable, but not shown) technologies. Antibodies were also tested for cross-reactivity to Human ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS13, MMP1, MMP3, MMP9 and MMP13 by cellTRF and Octet QK, all of which were negative (not shown). All mAbs were also assessed for orthologue cross-reactivity by binding and neutralization against mouse, canine, and cynomolgus monkey ADAMTS5 (Table 1). Binding was also detected against rat ADAMTS5 (not shown). Affinity comparisons for murine and chimeric forms of anti-human ADAMTS5 mAbs on Octet QK are summarized in Table 2.

Table 1: Characterization of purified anti-human ADAMTS5 monoclonal antibodies.

mAb	Affinity (Octet QK)			Aggrecan Substrate Cleavage Neutralization IC50 (nM)	ADAMTS5 Orthologue (Binding/Neutralization)		
	Ka	Kd	KD		Mouse	Cynomolgus	Canine
1G10.1C9	4.47E+04	8.43E-06	1.88E-10	0.375	(+/+)	(+/+)	(+/+)
2D3.1D4	6.67E+04	5.75E-06	8.62E-11	0.031	(+/+)	(+/+)	(+/+)
3A12.1D7	5.67E+04	4.67E-06	8.24E-11	0.769	(+/+)	(+/+)	(+/+)

30

5F10.1H6	5.53E+04	6.99E-06	1.26E-10	0.05	(+/-)	(+/-)	(+/-)
11F12.1D12	6.57E+04	4.33E-05	6.58E-10	2.527	(+/-)	(+/-)	(+/-)
12F4.1H7	3.31E+04	1.44E-05	4.36E-10	0.06	(+/-)	(+/-)	(+/-)
7B4.1E11	4.86E+04	4.36E-05	8.99E-10	0.08	(+/-)	(+/-)	(+/-)

Table 2: Direct comparison of purified murine and chimeric anti-human ADAMTS5 mAbs

mAb	Affinity (Qctet QK)		
	Ka	Kd	KD
Murine 12F4.1H7	5.64E+04	3.86E-06	6.85E-11
Chimeric 12F4.1H7	5.55E+04	4.43E-06	7.99E-11
Murine 7B4.1E11	7.65E+04	2.74E-05	3.58E-10
Chimeric 7B4.1E11	7.18E+04	2.47E-05	3.45E-10

5 **Example 3 - Sequences**

Based on the characteristics identified in Example 2, six monoclonal antibodies were identified. The variable regions of these antibodies were sequenced. Alignments are shown below (Table 3). A consensus (majority) heavy chain variable region and light chain variable region are represented by SEQ ID NOs: 30 and 31 below. Heavy chain variable regions for mAb designates 12F4.1H7, 1G10.1C9, 2D3.1D4, 3A12.1D7, 5F10.1H6, and 7B4.1E11 are represented by SEQ ID NOs: 32-37, respectively, and encoded by SEQ ID NOs: 147, 157, 151, 153, 155, and 149, respectively. Light chain variable regions for mAb designates 2D3.1D4, 3A12.1D7, 5F10.1H6, 7B4.1E11 and 12F4.1H7, and are represented by SEQ ID NOs: 38-42, respectively and encoded by SEQ ID NOs: 152, 154, 156, 150, and 148, respectively.

Table 3: anti-ADAMTS5 mAb CDR sequence alignment

V_H CDR Alignments

		CDR H1			
20		EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWMDDWVRQS Majority			
		-----+-----+-----+-----+			
		10	20	30	40
		-----+-----+-----+-----+			
25	1	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCTASGFTFS	DAWMDDWVRQS	12F4.1H7 VH.pro	
	1	EVKLEESGGGLGQPGGSMKLSCAASGFNFS	DAWMDDWVRQS	1G10.1C9 VH.pro	
	1	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGITFS	DAWMDDWVRQS	2D3.1D4 VH.pro	
	1	EVKFEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFI FS	DAWMDDWVRQS	3A12.1D7 VH.pro	
	1	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFS	DAWMDDWVRQS	5F10.1H6 VH.pro	
	1	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTSS	DAWMDDWVRQS	7B4.1E11 VH.pro	

CDR H2

PEKGLEWVA **EIRHKANDHAI FYDES VKGRFTISRDDSKSI** Majority
-----+-----+-----+-----+
5 50 60 70 80
-----+-----+-----+-----+
41 PEKGLEWVA **EIRHKANDHAI FYDES VKGRFTISRDDSKNI** 12F4.1H7 VH.pro
41 PEKGLEWVA **EIRHKANDHAI FYATS VKGRFTISRDDSKSS** 1G10.1C9 VH.pro
41 PEKGLEWVA **DIRNTANNHATFYAES VKGRFTISRDDSKST** 2D3.1D4 VH.pro
10 41 PEKGLEWVA **EIRHKANDYAI FYDES VKGRFTISRDDSKSI** 3A12.1D7 VH.pro
41 PEKGLEWVA **EIRHKANDHAI FYDES VKGRFTISRDDSKSI** 5F10.1H6 VH.pro
41 PEKGLEWVA **EIRNKANNHARHYAES VKGRFTISRDDSKSS** 7B4.1E11 VH.pro

CDR H3

15 VYLQMNSLRPEDTGIYYCTS **PFAY** -----WGQGTLVTVSA Majority
(SEQ ID NO:30)
-----+-----+-----+-----+
 90 100 110 120
-----+-----+-----+-----+
20 81 VYLQMNSLRPEDTGIYYCTS **PFAY** -----WGQGTLVTVSA 12F4.1H7 VH.pro
(SEQ ID NO:32)
81 VYLQMNSLRAEDTGIYYCTS **PFAY** -----WGQGTLVTVSA 1G10.1C9 VH.pro
(SEQ ID NO:33)
81 VYLQMNTLRPEDTGIYYCTS **PFAY** -----WGQGTLVTVSA 2D3.1D4 VH.pro
25 (SEQ ID NO:34)
81 VYLQMNNLRPEDTGIYYCTS **PFAY** -----WGQGTLVTVSA 3A12.1D7 VH.pro
(SEQ ID NO:35)
81 VYLQMNSLRPEDTGIYYCTS **PFAY** -----WGQGTLVTVSA 5F10.1H6 VH.pro
(SEQ ID NO:36)
30 81 VYLQMNSLRAEDSGIYYCTR **TYYYGSSYGYCDV** WGTGTTVTVSS 7B4.1E11 VH.pro
(SEQ ID NO:37)

V_L CDR Alignments

CDR L1

35 DIVMTQSQKFMSVTVGDRVSITC **KASQSVGTTIV** WYQQKP Majority
-----+-----+-----+-----+
 10 20 30 40
-----+-----+-----+-----+
1 DIVMTQSQKFMSSTTVGDRVSITC **KASQNVGLAVV** WFQQKP 2D3.1D4 VL.pro
40 1 DIVMTQSQKFMSVTVGDRVSITC **KASQSVGTTIV** WYQQKP 3A12.1D7 VL.pro
1 DIVMTQSQRFMSVTVGDRVSITC **KASQSVGTTIV** WYQQKP 5F10.1H6 VL.pro
1 DIQMTQSPA SL SASVGETVTITC **RTSINTYSYLA** WYQQKQ 7B4.1E11 VL.pro

1 DIVMTQSQKFMSVTVGDRVSITCKASQSVGTTIY WYQQKP 12F4.1H7 VL.pro

CDR L2

5

Majority

50607080

41 GQSPKLLIYSASNRXTGVPDRFTGSGSGTDFIL TINNVQS 2D3.1D4 VL.pro

41 GQSPKLLIYSASNRHTGVPDRFTGSGSGTDF ILTISNVQS 3A12.1D7 VL.pro

10 41 GQSPKLLIYSASTRYTGVPDRFTGGGSGTDFIL TINNVQS 5F10.1H6 VL.pro

41 GKSPQLLVYNAKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQP 7B4.1E11 VL.pro

41 GQSPKLLIYSASNRITGVPDRFTGSGSGTDFIL TINNVQS 12F4.1H7 VL.pro

CDR L3

15

Majority (SEQ ID NO:31)

90100

81 EDLADYFCQQYVNYFFIFGSGTKLEIKRA 2D3.1D4 VL.pro (SEQ ID NO:38)

20 81 EDLADYFCQQYS SYFFIFGSGTKLEIKRA 3A12.1D7 VL.pro (SEQ ID NO:39)

81 EDLADYFCQQYS SYFFIFGSGTKLEIKRA 5F10.1H6 VL.pro (SEQ ID NO:40)

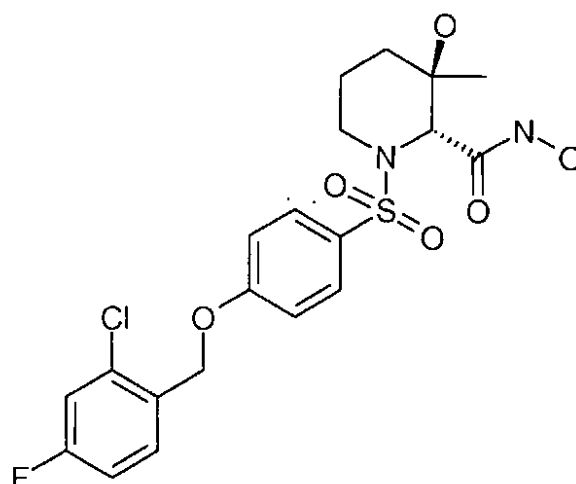
81 EDFG SYSCQH HYGTWIFGGGTKLEIKRA 7B4.1E11 VL.pro (SEQ ID NO:41)

81 EDLADYFCQQYTSYFFIFGSGTKLEIKRA 12F4.1H7 VL.pro (SEQ ID NO:42)

25

Example 4 – Human OA Cartilage Explant

Donor human OA cartilage was obtained from knce replacement surgeries. Cartilage was processed from the bone and cut into 3mm diameter discs. Discs were randomized and cultured in 96-well plates. Endogenous disease factors in the tissues were allowed to progress for cartilage degradation ex vivo. Samples were treated with the following: matched control IgG isotype, select anti-ADAMTS 5 antibodies (designated as 7B4.1E11 and 12F4.1H7), a selected anti-ADAMTS 4 antibody (designated as 7E8.1E3), or a known aggrecanase/MMP inhibitor, shown as GSK571949 (CAS number 329040-94-0) below. Each treatment condition was tested in multiples of 8 on each donor plate. Inhibition of ARGSVIL (SEQ ID NO:1) neocpitope release was measured for each sample at numerous points throughout the course of the experiment.

**GSK571949**

As described previously, cleavage of aggrecan by aggrecanase typically occurs at
5 a conserved region within the interglobular domain of aggrecan. Enzyme cleavage will
produce a released fragment containing a neopeptide with an N-terminal amino acid
sequence (ARGSVIL) from aggrecan. This cleavage neopeptide can be detected and
quantified using a monoclonal antibody which specifically binds to the cleaved forms, but
not intact aggrecan. Both ADAMTS5 antibodies and the ADAMTS5 inhibitor showed
10 significantly greater inhibition of ARGSVIL release than the control and ADAMTS4
antibody. A summary of percent inhibition of ARGSVIL release is shown in Figure 1.
The results demonstrate that ADAMTS5 specific mAbs are able to inhibit degradation at
a rate of approximately 70% for the 2-3 week assessment period as compared to a small
molecule assay control compound. These results are consistent within and across many
15 individual donor samples.

Example 5 - ADAMTS5 Antibody Dose Response in Human OA Cartilage

Explant

20 Percent inhibition of ARGSVIL release was tested as described in Example 4 for a
dose response of a selected anti-ADAMTS5 antibody (see Figure 2). Murine antibody
7B4.1E11 was tested at the following doses: 1340 nM, 670 nM, 335 nM, 81.25 nM.
Control aggrecanase/MMP inhibitor was also used. Percent ARGSVIL release was
lowest with the highest doses of anti-ADAMTS5 and declined upon treatment with lower

doses. Matched isotype control antibody treatment doses (not shown) were used to determine 0% inhibition and a single effective dose of GSK571949 was used to calculate 100% inhibition. This mAb treatment demonstrates a dose response that appears to reach a maximal effect at the 670nM dose (Figure 2). However, it should be noted that more
5 donors (n=22) were represented in the 670 nM dose point, while the other doses include fewer (n≤5).

Example 6 - *In vivo* studies DMM

OA was induced in mice using a Destabilization Medial Meniscus (DMM) model
10 for assessment of anti-ADAMTS5 antibody efficacy (see Figure 3). Two separate experiments are shown. Three days prior to surgical DMM, mice were administered a 0.5 mg/dose of one of the following antibodies: anti-ADAMTS5 (7B4.1E11), anti-ADAMTS5 (12F4.1H7), or IgG isotype. Control groups included untreated mice with DMM surgery, mice with sham surgery and normal mice. Six days after dosing, mice
15 were sacrificed and histopathology was performed by blinded investigators from which a joint score was given to each mouse knee assessed. Anti-ADAMTS5 antibodies showed significantly better mean joint scores compared with IgG1 isotype control. Additionally, sham surgery knees and normal knees had significantly better mean joint scores compared with untreated knees and IgG isotype.

20

Example 7 – Monoclonal antibodies penetrate cartilage *in vitro* and *in vivo*

The ability of therapeutic antibodies to penetrate tissue and reach the site of disease and their specific target is critical for efficacy. Aggrecanases, although classified as secreted proteins, have been shown to preferentially localize to the pericellular regions
25 of chondrocytes within the cartilage matrix. Therefore, in order for a therapeutic mAb to reach an aggrecanase target it may require penetration through the cartilage matrix.

Initially, assessing the ability of a mAb to penetrate human cartilage was performed on *ex-vivo* tissue using mAbs with multiple specificities, including selected anti-ADAMTS5 mAbs. Full thickness cartilage plugs, spanning synovial surface through
30 sub-chondral bone, from knee replacement surgical specimen were placed in tissue culture for defined durations in the presence of mouse monoclonal antibodies with specificities for human proteins located on the surface of chondrocytes or non-specific isotype controls. At the end of each timepoint tissues were processed for full thickness

assessment, sectioned and stained using a FITC-labeled anti-mouse detection antibody. Penetration is defined by the depth and intensity of chondrocyte staining within the cartilage tissue. Irrespective of target specificity, mAb penetration was observed to be a concentration and time-dependent process primarily originating from the synovial surface of the cartilage and proceeding to full thickness penetration within 3-4 days dependent on concentration (not shown). No staining was observed for cartilage plugs treated with isotype control mAbs (not shown).

In vivo assessment of cartilage penetration was performed using near-infrared (NIR) dye labeled monoclonal antibodies, including selective mAbs for ADAMTS4, ADAMTS5 and isotype controls. NIR labeled mAbs were systemically (intraperitoneally) administered (0.5 mg dose) to mice who, six weeks earlier, had undergone surgical induction of osteoarthritis (DMM). Biodistribution of mAbs was monitored in the whole animal at numerous timepoints following administration using a Licor Odyssey system. Four days after mAb administration mice were sacrificed and imaging of the knee joint was performed on the Odyssey. Knee joints were then processed and sectioned for high resolution analysis on a microscope equipped with filters and a camera for NIR detection. Within four days after systemic mAb administration full thickness cartilage penetration could be observed for an anti-ADAMTS5 and anti-ADAMTS4 mAb, while no specific staining was observed for the isotype control mAb (not shown). Characteristic pericellular chondrocyte staining patterns were observed for ADAMTS5 and ADAMTS4 specific mAbs (not shown).

Example 8 - Antibody Humanization - Cloning of Hybridoma Variable Regions

Total RNA was extracted from 7B4.1E11 and 12F4.1H7 hybridoma cells, heavy and light variable domain cDNA sequence was then generated by reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR). The forward primer for RT-PCR was a mixture of degenerate primers specific for murine immunoglobulin gene leader-sequences and the reverse primer was specific for the antibody constant regions, in this case isotype IgG1 for 7B4.1E11 and IgG2 for 12F4.1H7. Primers were designed based on a strategy described by Jones and Bendig (Bio/Technology 9:88, 1991). RT-PCR was carried out for both V-region sequences to enable subsequent verification of the correct V-region sequences. The V-region products generated by the RT-PCR were cloned (Invitrogen TA Cloning Kit) and sequence data obtained.

Example 9 – Antibody Humanization - Cloning of the chimera

The DNA expression constructs encoding the chimeric antibody were prepared de novo by build-up of overlapping oligonucleotides including restriction sites for cloning into mammalian expression vectors as well as a human signal sequence. *HindIII* and *SpeI* restriction sites were introduced to frame the V_H domain containing the signal sequence (SEQ ID NO: 45) for cloning into mammalian expression vectors containing the human γ1 constant region. *HindIII* and *BsiWI* restriction sites were introduced to frame the V_L domain containing the signal sequence (SEQ ID NO: 45) for cloning into mammalian expression vector containing the human kappa constant region.

Example 10 – Antibody Humanization - Cloning of the humanized variants

The DNA expression constructs encoding the humanized antibody variants were prepared de novo by build-up of overlapping oligonucleotides including restriction sites for cloning into mammalian expression vectors as well as a human signal sequence. *HindIII* and *SpeI* restriction sites were introduced to frame the V_H domain containing the signal sequence (SEQ ID NO: 45) for cloning into mammalian expression vectors containing the human γ1 constant region. *HindIII* and *BsiWI* restriction sites were introduced to frame the V_L domain containing the signal sequence (SEQ ID NO: 45) for cloning into mammalian expression vector containing the human kappa constant region.

Table 4: Antibody variants

Antibody ID	Alternative Names	Description	SEQ ID NO: of nucleotide sequence	SEQ ID NO: of amino acid sequence
BPC1622	7B4 Chimera	7B4 chimeric heavy chain	67	68
		7B4 chimeric light chain	69	70
BPC1623	12F4 Chimera	12F4 chimeric heavy chain	71	72
		12F4 chimeric light chain	73	74
BPC1634	7B4 H0L0	7B4 H0 heavy chain	83	84
		7B4 L0 light chain	97	98
BPC1635	7B4 H1L0	7B4 H1 heavy chain	85	86
		7B4 L0 light chain	97	98
BPC1636	7B4 H2L0	7B4 H2 heavy chain	87	88
		7B4 L0 light chain	97	98

BPC1637	7B4 H3L0	7B4 H3 heavy chain	89	90
		7B4 L0 light chain	97	98
BPC1638	7B4 H4L0	7B4 H4 heavy chain	91	92
		7B4 L0 light chain	97	98
BPC1639	7B4 H5L0	7B4 H5 heavy chain	93	94
		7B4 L0 light chain	97	98
BPC1640	7B4 H6L0	7B4 H6 heavy chain	95	96
		7B4 L0 light chain	97	98
BPC1641	7B4 H0L1	7B4 H0 heavy chain	83	84
		7B4 L1 light chain	99	100
BPC1642	7B4 H1L1	7B4 H1 heavy chain	85	86
		7B4 L1 light chain	99	100
BPC1643	7B4 H2L1	7B4 H2 heavy chain	87	88
		7B4 L1 light chain	99	100
BPC1644	7B4 H3L1	7B4 H3 heavy chain	89	90
		7B4 L1 light chain	99	100
BPC1645	7B4 H4L1	7B4 H4 heavy chain	91	92
		7B4 L1 light chain	99	100
BPC1646	7B4 H5L1	7B4 H5 heavy chain	93	94
		7B4 L1 light chain	99	100
BPC1647	7B4 H6L1	7B4 H6 heavy chain	95	96
		7B4 L1 light chain	99	100
BPC1648	7B4 H0L2	7B4 H0 heavy chain	83	84
		7B4 L2 light chain	101	102
BPC1649	7B4 H1L2	7B4 H1 heavy chain	85	86
		7B4 L2 light chain	101	102
BPC1650	7B4 H2L2	7B4 H2 heavy chain	87	88
		7B4 L2 light chain	101	102
BPC1651	7B4 H3L2	7B4 H3 heavy chain	89	90
		7B4 L2 light chain	101	102
BPC1652	7B4 H4L2	7B4 H4 heavy chain	91	92
		7B4 L2 light chain	101	102
BPC1653	7B4 H5L2	7B4 H5 heavy chain	93	94
		7B4 L2 light chain	101	102
BPC1654	7B4 H6L2	7B4 H6 heavy chain	95	96
		7B4 L2 light chain	101	102
BPC1655	12F4 H0L0	12F4 H0 heavy chain	103	104
		12F4 L0 light chain	113	114
BPC1656	12F4 H1L0	12F4 H1 heavy chain	105	106
		12F4 L0 light chain	113	114
BPC1657	12F4 H2L0	12F4 H2 heavy chain	107	108
		12F4 L0 light chain	113	114
BPC1658	12F4 H3L0	12F4 H3 heavy chain	109	110
		12F4 L0 light chain	113	114
BPC1659	12F4 H4L0	12F4 H4 heavy chain	111	112
		12F4 L0 light chain	113	114

Example 11 – Antibody Humanization - Expression of the recombinant antibodies (including antibody quantification)

Expression plasmids encoding the heavy and light chains respectively were transiently co-transfected into HEK 293 6E cells and expressed at small scale to produce antibody. Heavy and light chains of the 7B4 and 12F4 chimeric antibodies and an irrelevant control antibody were also expressed. Antibodies were quantified by ELISA. ELISA plates were coated with anti human IgG (Sigma I3382) at 1µg/ml and blocked with blocking solution (4% BSA in Tris buffered saline). Various dilutions of the tissue culture supernatants were added and the plate was incubated for 1 hour at room temperature. Dilutions of a known standard antibody were also added to the plate. The plate was washed in TBST and binding was detected by the addition of a peroxidase labelled anti human kappa light chain antibody (Sigma A7164) at a dilution of 1/1000 in blocking solution. The plate was incubated for 1 hour at room temp before washing in TBST. The plate was developed by addition of OPD substrate (Sigma P9187) and colour development stopped by addition of 2M H₂SO₄. Absorbance was measured at 490nm and a standard curve plotted using data for the known standard dilutions. The standard curve was used to estimate the concentration of antibody in the tissue culture supernatants.

Example 12 – ADAMTS5 binding ELISA

A binding ELISA was carried out to test the binding of the expressed antibodies in cell culture supernatant to recombinant ADAMTS5. ELISA plates were coated with recombinant human ADAMTS5 at 0.2µg/ml and blocked with blocking solution (4% BSA in Tris buffered saline). Various dilutions of the tissue culture supernatants were added and the plate was incubated for 1 hour at room temperature before washing in TBST. Binding was detected by the addition of a peroxidase labelled anti human kappa light chain antibody (Sigma A7164) at a dilution of 1/1000 in blocking solution. The plate was incubated for 1 hour at room temp before washing in TBST. The plate was developed by addition of OPD substrate (Sigma P9187) and colour development stopped by addition of 2M H₂SO₄. Absorbance was measured at 490nm with a plate reader and the mean absorbance plotted against concentration.

Figures 6-9 show the binding of the humanized anti ADAMTS5 antibodies to recombinant antigen .

Example 13 - BIAcore

- 5 Anti-human IgG (Biacore™, BR-1008-39) was immobilized on a CM5 chip by primary amine coupling. This surface was then used to capture the humanized antibodies, ADAMTS5 (R&D Systems 2198-AD) was then passed over the captured antibody at a single concentration of 64nM, regeneration was carried out using 100mM phosphoric acid followed by 3M MgCl₂. The binding curves were double referenced with buffer injection
- 10 (i.e. 0nM) and the data was fitted to the T100 analysis software using the 1:1 model. The run was carried out at 25°C, using HBS-EP as the running buffer. The data obtained is shown in Table 5. All antibodies were captured from tissue culture supernatants unless specified.

Table 5 – Kinetics of binding to human ADAMTS5

Sample	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
BPC1623 (purified)	6.463E+05	4.700E-05	0.07273
BPC1622 (purified)	8.723E+05	1.056E-03	1.211
BPC1622	1.159E+06	1.305E-03	1.125
BPC1623	6.234E+05	4.823E-05	0.07737
BPC1634	5.538E+05	4.811E-04	0.8687
BPC1635	7.041E+05	8.258E-04	1.173
BPC1636	1.073E+06	8.963E-04	0.8357
BPC1637	1.119E+06	9.625E-04	0.8604
BPC1638	8.749E+05	8.309E-04	0.9497
BPC1639	9.271E+05	8.937E-04	0.9639
BPC1640	7.870E+05	8.492E-04	1.079
BPC1641	7.144E+05	9.453E-04	1.323
BPC1642	8.874E+05	1.210E-03	1.364
BPC1643	1.362E+06	1.434E-03	1.053
BPC1644	1.491E+06	1.572E-03	1.054
BPC1645	1.119E+06	1.159E-03	1.036
BPC1646	1.788E+06	1.843E-03	1.031
BPC1647	1.485E+06	1.453E-03	0.9784
BPC1648	7.875E+05	9.512E-04	1.208
BPC1649	1.023E+06	1.297E-03	1.267
BPC1650	3.140E+06	3.427E-03	1.091
BPC1651	2.653E+06	3.150E-03	1.188
BPC1652	1.963E+06	2.122E-03	1.081
BPC1653	2.236E+06	2.597E-03	1.161
BPC1654	1.040E+06	1.137E-03	1.094
BPC1655	no	binding	seen
BPC1656	6.327E+05	3.950E-04	0.6243
BPC1657	5.850E+05	7.540E-05	0.1289
BPC1658	4.483E+05	1.398E-04	0.3119
BPC1659	4.894E+05	4.147E-05	0.08475

5 Example 14. Comparative affinity of murine, chimeric and humanized ADAMTS5 mAbs

Affinity was assessed for the mAbs in two formats (antigen on sensor, Octet QK and antibody on sensor, Biacore) (Table 6). The relevance of the Octet QK format, which would be representative of a cellular target, is relevant to ADAMTS5 due to the naturally occurring cell associated form of the enzyme in vivo. However, since ADAMTS5 can also be found in a secreted form, we also assessed affinity in an antibody on sensor format using Biacore. Differences observed between the Octet and Biacore analysis may represent format variations (i.e. antigen on sensor in Octet QK and mAb on sensor in Biacore) and technical differences between the systems. However, when run in the same

formats the systems were remarkably similar in terms of overall KD for these mAbs. Differences in Kd and Ka were observed, likely due to instrument design differences.

The humanized CS mAb (12F4 H4L0) exhibits an overall affinity (KD) of 38.3 pM as measured in the antigen down format in the Octet QK system. The 12F4 H4L0 mAb demonstrates a KD of 85 pM, in the mAb down format in the Biacore system. 7B4 H0L0 shown for reference, exhibits a KD of 205 and 869 pM in the Octet QK and Biacore systems respectively. Affinity values for the murine and chimeric forms of each mAb are shown here for reference to demonstrate that affinity was retained post humanization. All mAbs in this experiment contained fully functional Fc portions (i.e., were not Fc-disabled).

Table 6. Comparative affinity of murine, chimeric and humanized ADAMTS5 mAbs

mAb	Affinity (Biacore) mAb Down no Avidity			Affinity (Octet QK) Antigen Down incl Avidity		
	K _a	K _d	KD	K _a	K _d	KD
Murine 12F4.1H7	1.56E+06	1.04E-04	0.067nM	6.99E+04	2.49E-06	0.0356nM
Chimeric 12F4.1H7	1.56E+06	7.86E-05	0.051nM	6.85E+04	2.96E-06	0.0431nM
Humanized 12F4.1H7 H4L0	4.89E+05	4.15E-05	0.085nM	7.54E+04	2.88E-06	0.0383nM
Murine 7B4.1E11	4.81E+06	2.32E-03	0.483nM	9.25E+04	2.59E-05	0.280nM
Chimeric 7B4.1E11	2.43E+06	1.14E-03	0.473nM	1.00E+05	2.61E-05	0.260nM
Humanized 7B4.1E11 H0L0	5.54E+05	4.81E-04	0.869nM	1.06E+05	2.16E-05	0.205nM

Example 15. Human OA cartilage explant experiment humanized 12F4 H4L0 dose range

The humanized 12F4 H4L0 Fc disabled mAb was assessed in this system in a dose response format versus appropriate Fc disabled isotype and other positive and negative controls and in comparison to the parental murine 12F4.1H7 version at a single dose. Multiple donors (n=4) were assessed individually in this study and results were compiled to generate a mean inhibition score across an OA patient population. GSK571949 was used at a single concentration (2uM) as an assay control to set maximal inhibition levels. The results demonstrate a clear 12F4 H4L0 dose response with a maximal response achieved at the highest dose (1333 nM) as compared to a dose range of irrelevant humanized isotype control mAb (Figure 10). Nearly complete inhibition of ARGS neopeptide in relation to GSK571949 was achieved at the highest dose (2uM). In addition, the level of inhibition for 12F4 H4L0 was demonstrated to be greater than 12F4.1H7 in these donors, suggesting retained efficacy following humanization. Although the level of efficacy is greater for the humanized version of the mAb it is not

clear whether this is a true increase or due to differences in mAb preparations. It should be noted that the level of efficacy observed with the 12F4.1117 form of the mAb in separate experiments with additional OA donors (Figure 1) was greater than observed here. Taking into account the relevance of this system to the human disease and observed efficacy, this data strongly supports validation of this approach and these mAbs.

Example 16. Human OA cartilage explant therapeutic pulse chase experiment

This experiment was designed as in Example 15, however following a 5 day treatment duration with the mAbs or compounds to allow for saturation of the system, the treatments were removed and replaced with fresh media lacking the treatment. The assay was continued for 4 weeks with periodic sampling of the culture media for subsequent assessment of cartilage degradation markers. Following each sampling, the same volume withdrawn in the sample was replaced with fresh media. This format was designed to address the potency and duration of the therapeutic effect and indirectly suggest ADAMTS5 turnover rate within the tissue. Results shown compiled from identical experiments using 4 different human OA donors (Figure 11). These results provide evidence of the extended duration of the ADAMTS5 mAb response in human OA cartilage even in advanced disease state (i.e. at time of joint replacement). In addition, these results provide evidence of the low turnover rate of ADAMTS5 in diseased tissue.

Example 17. Fc-Disabled Humanized Antibody

The gene encoding the humanized 12F4 H4 V_H domain was cloned onto the modified human gamma 1 constant region, IgG1m(AA). The IgG1m(AA) constant region contains two alanine substitutions in the CH2 domain at positions L235 and G237(EU index numbering). These mutations render the resulting antibody unable to bind the necessary Fc receptors or complement component C1q, thus disabling its ability to induce antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC) or complement dependent cytotoxicity (CDC).

Table 7

			DNA Sequence	Amino Acid Sequence
BPC1661	12F4 H4L0 IgG1m(AA)	12F4 H4 heavy chain	159	158
		12F4 L0 light chain	113	114

Expression plasmids encoding the heavy and light chains of the antibodies BPC1623 (12F4 Chimera), BPC1659 (12F4 H4L0 IgG1wt) and BPC1661 (12F4 H4L0 IgG1m(AA)) were expressed in HEK cells. Antibodies were purified by Protein A affinity chromatography and quantified by spectrophotometry.

A binding ELISA was carried out to compare the binding of the purified antibodies to ADAMTS5. An irrelevant antibody of IgG1wt isotype and an Fc disabled antibody were included as negative controls. Briefly, plates were coated with recombinant human ADAMTS5 at 0.2ug/ml and blocked with blocking solution (4% BSA in Tris buffered saline). Various concentrations of purified antibody were added and the plate incubated for 1 hour at room temperature before washing with TBST (Tris buffered saline + 0.05% Tween 20). Binding was detected by the addition of a peroxidase labelled anti human kappa light chain antibody (Sigma A7164) at a dilution of 1/1000 in blocking solution. The plate was incubated for 1 hour at room temperature before washing in TBST. The plate was developed by addition of OPD substrate (Sigma P9187) and colour development stopped by addition of 2M H₂SO₄. Absorbance was measured at 490nm with a plate reader and the mean absorbance plotted against concentration.

Figure 12 shows the binding of the purified anti ADAMTS5 antibodies to recombinant antigen.

Example 18. Biacore of Fc-Disabled Antibody

Protein A was immobilized on a CM5 biosensor chip by primary amine coupling. This surface was used to capture the Fc disabled anti-ADAMTS5 antibody, 12F4 H4L0 IgG1m(AA) (BPC1661), (CHO and HEK expressed material). Recombinant human ADAMTS5 (R&D Systems 2198-AD) was used as the analyte at 64nM, 16nM, 4nM, 1nM, 0.25nM and 0.0625nM, with a buffer injection (i.e. 0nM) used to double reference the binding curves. Regeneration of the capture surface (i.e. removal of the captured antibody) was with 50mM NaOH. The running buffer was HBS-EP and the run was carried out on the Biacore T100 at 25°C. The data was fitted to the 1:1 model inherent to the machines analysis software. The results showed that there was no difference between material produced in different cell lines in terms of binding affinity.

Results

Construct	ka	kd	KD (nM)
12F4 H4L0 IgG1m(AA) (HEK Expressed)	9.43E+05	6.98E-05	0.074
12F4 H4L0 IgG1m(AA) (CHO Expressed)	8.30E+05	5.85E-05	0.070

Example 19. Crystallography structure modeling of antigen-antibody interaction - Implications for epitope and MOA

5 In silico structure ‘best fit’ computational modeling using separate crystal structures for ADAMTS5 and the ADAMTS5 mAb 12F4.1H7 suggest simultaneous antibody/antigen interactions between both the catalytic and disintegrin domains of ADAMTS5. The catalytic and disintegrin domains of ADAM and ADAMTS proteases
10 are separated by a hinge region that imparts flexibility between the domains which may act to regulate function or allow for substrate localization to the catalytic site. The high affinity mAb binding observed at this domain spanning epitope likely ‘locks’ the catalytic and disintegrin domains of ADAMTS5 together thereby neutralizing enzymatic activity. Shown in Figure 13 are the predicted amino acid sites of interaction between ADAMTS5
15 and the 12F4.1H7 and 7B4.1E11 mAbs.

Sequence Descriptions	Sequence identifier (SEQ ID NO)	
	amino acid sequence	DNA sequence
Signal peptide sequence	46	45
7B4 mouse variable heavy	48	47
7B4 mouse variable light	50	49
12F4 mouse variable heavy	52	51
12F4 mouse variable light	54	53
7B4 CDRH1	55	
7B4 CDRH2	56	
7B4 CDRH3	57	
7B4 CDRL1	58	
7B4 CDRL2	59	
7B4 CDRL3	60	
12F4 CDRH1	61	
12F4 CDRH2	62	
12F4 CDRH3	63	
12F4 CDRL1	64	
12F4 CDRL2	65	
12F4 CDRL3	66	
7B4 chimera heavy chain	68	67
7B4 chimera light chain	70	69
12F4 chimera heavy chain	72	71
12F4 chimera light chain	74	73
7B4 chimera heavy chain variable region	76	75
7B4 chimera light chain variable region	78	77
12F4 chimera heavy chain variable region	80	79
12F4 chimera light chain variable region	82	81
7B4 H0 heavy chain	84	83
7B4 H1 heavy chain	86	85
7B4 H2 heavy chain	88	87
7B4 H3 heavy chain	90	89
7B4 H4 heavy chain	92	91
7B4 H5 heavy chain	94	93
7B4 H6 heavy chain	96	95
7B4 L0 light chain	98	97
7B4 L1 light chain	100	99
7B4 L2 light chain	102	101
12F4 H0 heavy chain	104	103
12F4 H1 heavy chain	106	105

12F4 H2 heavy chain	108	107
12F4 H3 heavy chain	110	109
12F4 H4 heavy chain	112	111
12F4 L0 light chain	114	113
7B4 H0 heavy chain variable region	116	115
7B4 H1 heavy chain variable region	118	117
7B4 H2 heavy chain variable region	120	119
7B4 H3 heavy chain variable region	122	121
7B4 H4 heavy chain variable region	124	123
7B4 H5 heavy chain variable region	126	125
7B4 H6 heavy chain variable region	128	127
7B4 L0 light chain variable region	130	129
7B4 L1 light chain variable region	132	131
7B4 L2 light chain variable region	134	133
12F4 H0 heavy chain variable region	136	135
12F4 H1 heavy chain variable region	138	137
12F4 H2 heavy chain variable region	140	139
12F4 H3 heavy chain variable region	142	141
12F4 H4 heavy chain variable region	144	143
12F4 L0 light chain variable region	146	145
12F4.1H7 heavy chain variable region	32	147
1G10.1C9 heavy chain variable region	33	157
2D3.1D4 heavy chain variable region	34	151
3A12.1D7 heavy chain variable region	35	153
5F10.1H6 heavy chain variable region	36	155
7B4.1E11 heavy chain variable region	37	149
2D3.1D4 light chain variable region	38	152
3A12.1D7 light chain variable region	39	154
5F10.1H6 light chain variable region	40	156
7B4.1E11 light chain variable region	41	150
12F4.1H7 light chain variable region	42	148
12F4 H4L0 IgG1m(AA) heavy chain	158	159

CLAIMS

1. An isolated antigen binding protein comprising at least one first immunoglobulin variable domain capable of binding to human ADAMTS5.
2. The antigen binding protein of claim 1, wherein said antigen binding protein is an antibody or fragment thereof.
3. The antigen binding protein of claims 1 or 2, wherein said antibody is a monoclonal antibody or fragment thereof.
4. The antigen binding protein of claim 3, wherein said monoclonal antibody or fragment thereof is mouse, chimeric, humanized, or fully human.
5. The antigen binding protein of any one of claims 1 to 4, wherein said antigen binding protein comprises at least one complementarity determining region.
6. The antigen binding protein of any one of claims 1 to 5, wherein said antigen binding protein is a monoclonal antibody comprising a heavy chain comprising CDRH1, CDRH 2 and CDRH3 and a light chain comprising CDRL1, CDRL 2 and CDRL 3, wherein the complementarity determining regions (CDRs) of the heavy chain are selected from the group of:
 - a) CDRH1 having at least about 80% sequence identity to amino acid sequence DAWMD;
 - b) CDRH2 having at least about 70% sequence identity to amino acid sequence EIRHKANDHAIIFYXESVKG; and
 - c) CDRH3 having at least about 70% sequence identity to amino acid sequence TYYYGSSYGYCDV or PFAY; andthe complementarity determining regions of the light chain are selected from the group of:
 - d) CDRL1 having at least about 70% sequence identity to amino acid sequence KASQSVGTIV or RTSENIYSYLA;
 - e) CDRL2 having at least about 70% sequence identity to amino acid sequence NAKTLAE or SASNRXT; and
 - f) CDRL3 having at least about 70% sequence identity to amino acid sequence QQYSSYPFT or QHHYGTPT.

7. The antigen binding protein of any one of claims 1 to 5, wherein said polypeptide is a monoclonal antibody comprising a heavy chain comprising CDRH1, CDRH2 and CDRH3 and a light chain comprising CDRL1, CDRL2 and CDRL 3, wherein the complementarity determining regions (CDRs) of the heavy chain are selected from:
- (a) CDRH1 is amino acid sequence DAWMD;
 - (b) CDRH2 is select from amino acid sequence EIRHKANDHAIIFYAESVKG, EIRNKANNIARIHYAESVKG, EIRHKANDYAIIFYDESVKG, EIRHKANDHAIIFYDESVKG, or DIRNTANNHATFYAESVKG, EIRHKANDHAIIFYDESVKG ; and
 - (c) CDRH3 is TYYYGSSYGYCDV or PFAY; and
- the complementarity determining regions of the light chain are selected from:
- (d) CDRL1 is select from amino acid sequence KASQSVGTIV, RTSENIYSYLA, or KASQNVGTAVV;
 - (e) CDRL2 is select from amino acid sequence NAKTLAE, SASNRHT, SASTRYT, or SASNRYT; and
 - (f) CDRL3 is select from amino acid sequence QQYSSYPFT, QHHYGTPWT, QQYVNYPFT, or QQYTSYPFT.
8. The antigen binding protein of any one of claims 1 to 7 wherein CDRH3 comprises the amino acid sequence, PFAY.
9. The antigen binding protein of anyone of claims 1 to 8 wherein said polypeptide is a Fab or F(ab)₂ fragment.
10. The antigen binding protein of claim 1, wherein the first immunoglobulin variable domain is a single chain variable domain.
11. The antigen binding protein of anyone of claims 1 to 10 wherein said antigen binding protein further comprises a second immunoglobulin variable domain, capable of binding to a second antigen.
12. The antigen binding protein of claim 11 wherein said second immunoglobulin variable domain binds to at least one an antigen selected from the group of: human serum albumin, ADAMTS4, NGF, OSM, TNF- α , IL-6, VIP, TRPV1,

- TRPV4, ADAMTS1, Aggrecan, Collagen II, RANKL, Syndecan 4, Hedgehog, and/or IL-1.
13. The antigen binding protein of any one of claims 1 to 12 characterized by a dissociation constant $KD(off)$ equal or less than about 2.5×10^{-10} M for human ADAMTS5.
 14. The antigen binding protein of anyone of claims 1 to 13 wherein said antigen binding protein blocks and/or reduces at least one activity of ADAMTS5.
 15. The antigen binding protein of anyone of claims 1 to 14 wherein said antigen binding protein blocks and/or reduces the cleavage of aggrecan by ADAMTS5 at the Glu³⁷³-Ala³⁷⁴ cleavage site.
 16. The antigen binding protein of anyone of claims 1 to 15 wherein said antigen binding protein is capable of penetrating cartilage when administered to an animal.
 17. An isolated polynucleotide encoding an antigen binding protein of anyone of claims 1 to 16.
 18. A host cell comprising the polynucleotide of claim 17.
 19. A pharmaceutical composition comprising at least one of the antigen binding proteins of any one of claims 1 to 16.
 20. A pharmaceutical composition comprising a first antigen binding protein of any one of claims 1 to 16 and a second monoclonal antibody.
 21. The pharmaceutical composition of claim 20 wherein said second monoclonal antibody binds an antigen selected from the group of ADAMTS4, ADAMTS5, NGF, OSM, TNF- α , IL-6, VIP, TRPV1, TRPV4, ADAMTS1, Aggrecan, Collagen II, RANKL, and/or IL-1.
 22. A method of treating a patient in need thereof comprising administering at least one dose of pharmaceutical composition of any one of claims 19 to 21 to said patient.
 23. The method of claim 22 wherein the patient is suffering from a disease of the cartilage.
 24. The method of claim 23 wherein the patient is suffering from at least one disease selected from the group of: cancer, pain, chronic pain, neuropathic pain, postoperative pain, osteoarthritis, sports injuries, erosive arthritis, rheumatoid

arthritis, psoriatic arthritis, Lyme arthritis, juvenile arthritis, ankylosing spondylosis, neuralgia, neuropathies, algesia, nerve injury, ischaemia, neurodegeneration, inflammatory diseases, cartilage degeneration, diseases affecting the larynx, trachea, auditory canal, intervertebral discs, ligaments, tendons, joint capsules or bone development, intervertebral disc degeneration, osteopenia, or periodontal diseases, acute joint injury, and/or a disease related to joint destruction.

25. The method of claim 24, wherein the patient is suffering from osteoarthritis.
26. The method of any one of claims 22 to 25 wherein administering at least one dose of said pharmaceutical composition reduces cartilage degradation in said patient.
27. The method of any one of claims 22 to 26, wherein administering at least one dose of said pharmaceutical composition inhibits and/or reduces aggrecan cleavage in said patient.
28. The method of any one of claims 22 to 27, wherein said pharmaceutical composition is administered intravenously, intramuscularly, intraarticularly, subcutaneously, orally, intranasally, and/or via respiratory inhaler.
29. An isolated monoclonal antibody comprising six CDRs wherein CDRH1 is DAWMD (SEQ ID NO:2), CDRH2 is EIRNKANNHARHYAESVKG (SEQ ID NO:13), and CDRH3 is TYYYGSSYGYCDV (SEQ ID NO:18) and CDRL1 is RTSENIYSYLA (SEQ ID NO:20), CDRL2 is NAKTLAE (SEQ ID NO:22) and CDRL3 is QHHYGTPWT (SEQ ID NO:27).
30. An isolated monoclonal antibody comprising six CDRs wherein CDRH1 is DAWMD (SEQ ID NO:2), CDRH2 is EIRHKANDHAIIFYDESVKG (SEQ ID NO:15), and CDRH3 is PFAY (SEQ ID NO:5) and CDRL1 is KASQSVGTTIV (SEQ ID NO:19), CDRL2 is SASNRHT (SEQ ID NO:23) and CDRL3 is QQYTSYPFT (SEQ ID NO:29).
31. An isolated monoclonal antibody or antigen-binding fragment thereof, wherein said antibody or antigen binding fragment thereof competitively binds to human ADAMTS5 with an antibody of claim 29 or claim 30.
32. An isolated monoclonal antibody or antigen-binding fragment thereof, wherein said antibody or antigen binding fragment thereof binds to a neutralizing epitope

- of human ADAMTS5 with an affinity of at least about 5×10^4 liter/mole as measured by an association constant (K_a).
33. The antibody or antigen-binding fragment thereof of any one of claims 29 to 31 wherein said antibody comprises a human constant region.
34. The antibody or antigen-binding fragment of claim 1, which is of immunoglobulin class IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 or IgM.
35. The antigen-binding fragment of any one of claims 29 to 34, wherein said fragment is selected from the group consisting of Fab, Fab', F(ab')₂ and Fv.
36. An antigen binding protein or a fragment thereof comprising an antibody V_H domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 76, 80, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 136, 138, 140, 142, and 144.
37. An antigen binding protein or a fragment thereof comprising an antibody an antibody V_L domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 78, 82, 130, 132, 134, and 146.
38. An antigen binding protein or a fragment thereof comprising an antibody V_H domain of claim 36 and a V_L domain of claim 37.
39. The antigen binding protein or a fragment thereof of claim 38 comprising an antibody V_H domain comprising SEQ ID NO: 76 and a V_L domain comprising SEQ ID NO: 78.
40. The antigen binding protein or a fragment thereof of claim 38 comprising an antibody V_H domain comprising SEQ ID NO: 80 and a V_L domain comprising SEQ ID NO: 82.
41. The antigen binding protein or a fragment thereof of claim 38 comprising an antibody V_H domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 116, 118, 120, 122, 124, 126, and 128 and a V_L domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 130, 132, and 134.
42. The antigen binding protein or a fragment thereof of claim 38 comprising an antibody V_H domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 136, 138, 140, 142, and 144 and a V_L domain comprising SEQ ID NO: 146.

43. An antigen binding protein or a fragment thereof comprising an antibody heavy chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 68, 72, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 104, 106, 108, 110, 112, and 158.
44. An antigen binding protein or a fragment thereof comprising an antibody light chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 70, 74, 98, 100, 102, and 114.
45. An antigen binding protein or a fragment thereof comprising an antibody heavy chain of claim 43 comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ and an antibody light chain of claim 44.
46. The antigen binding protein or a fragment thereof of claim 45 comprising an antibody heavy chain comprising SEQ ID NO: 68 and an antibody light chain comprising SEQ ID NO: 70.
47. The antigen binding protein or a fragment thereof of claim 45 comprising an antibody heavy chain comprising SEQ ID NO: 72 and an antibody light chain comprising SEQ ID NO: 74.
48. The antigen binding protein or a fragment thereof of claim 45 comprising an antibody heavy chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 84, 86, 88, 90, 92, 94, and 96 and an antibody light chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 98, 100, and 102.
49. The antigen binding protein or a fragment thereof of claim 45 comprising an antibody heavy chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 104, 106, 108, 110, 112, and 158 and an antibody light chain comprising SEQ ID NO: 114.
50. An isolated polynucleotide encoding an antibody V_H domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 76, 80, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 136, 138, 140, 142, and 144.
51. The isolated polynucleotide of claim 50 wherein said polynucleotide is selected from the group consisting of SEQ ID NO: 75, 79, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 135, 137, 139, 141, 143, and 159.
52. An isolated polynucleotide encoding an antibody V_L domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 78, 82, 130, 132, 134, and 146.

53. The isolated polynucleotide of claim 52 wherein said polynucleotide is selected from the group consisting of SEQ ID NO: 77, 81, 129, 131, 133, and 145.
54. An isolated polynucleotide encoding an antibody heavy chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 68, 72, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 104, 106, 108, 110, 112, and 158.
55. The isolated polynucleotide of claim 54 wherein said polynucleotide is selected from the group consisting of SEQ ID NO: 67, 71, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 103, 105, 107, 109, 111, and 159.
56. An isolated polynucleotide encoding an antibody light chain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 70, 74, 98, 100, 102, and 114.
57. The isolated polynucleotide of claim 56 wherein said polynucleotide is selected from the group consisting of SEQ ID NO: 69, 73, 97, 99, 101, and 115.
58. A method of treating a patient in need thereof comprising administering at least one antigen binding protein of any one of claims 1 to 16 to said patient.
59. An isolated monoclonal antibody or antigen-binding fragment thereof, wherein said antibody or antigen binding fragment thereof binds to a neutralizing epitope of human ADAMTS5 with a dissociation constant (K_d) of less than about 5×10^{-4} liter/second.

Figure 1: Percentage Inhibition of ARGSVIL Neoepitope Generation of ADAMTS5 mAbs.

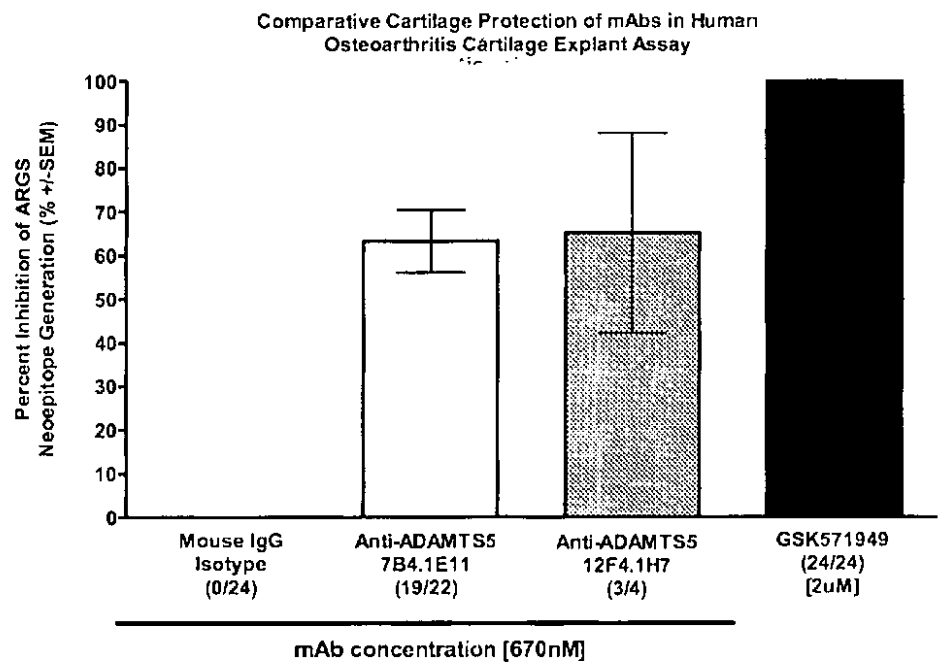
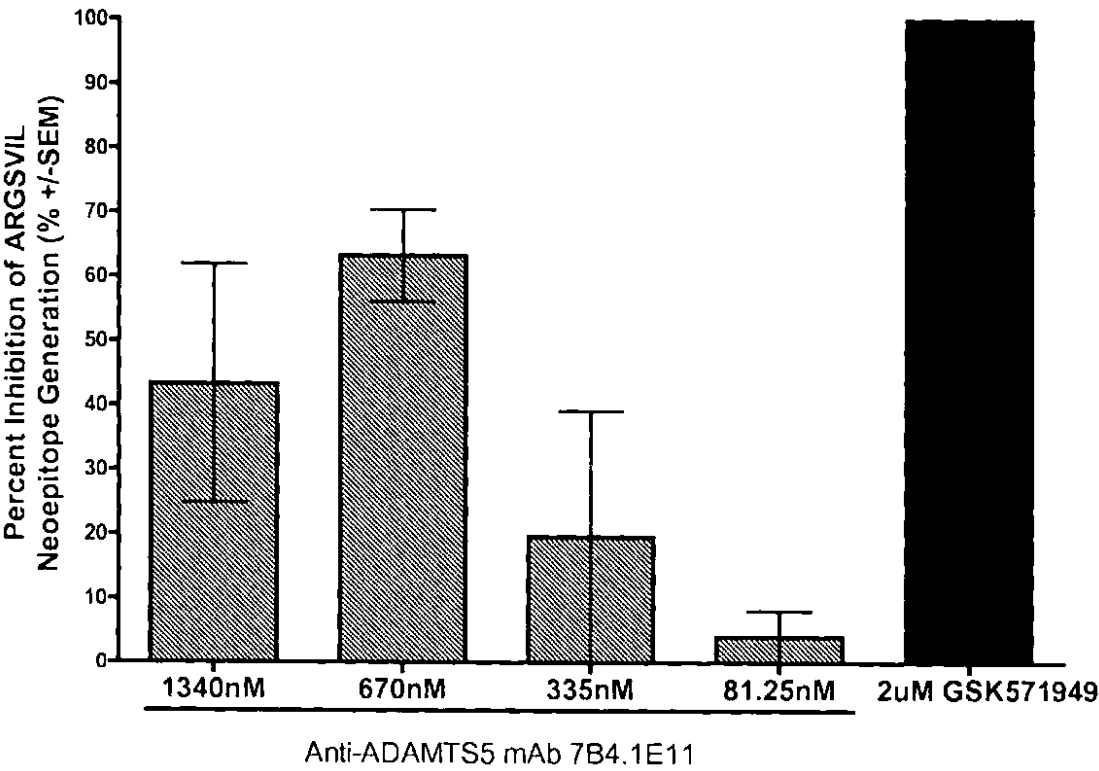


Figure 2: Concentration Dependent Inhibition of ARGSVIL Neopeptide Generation for 7B4.1E11 Murine mAb



13

Figure 3: Mean Total Joint Score for Mice Treated with Selected ADAMTS5 Antibodies versus Control

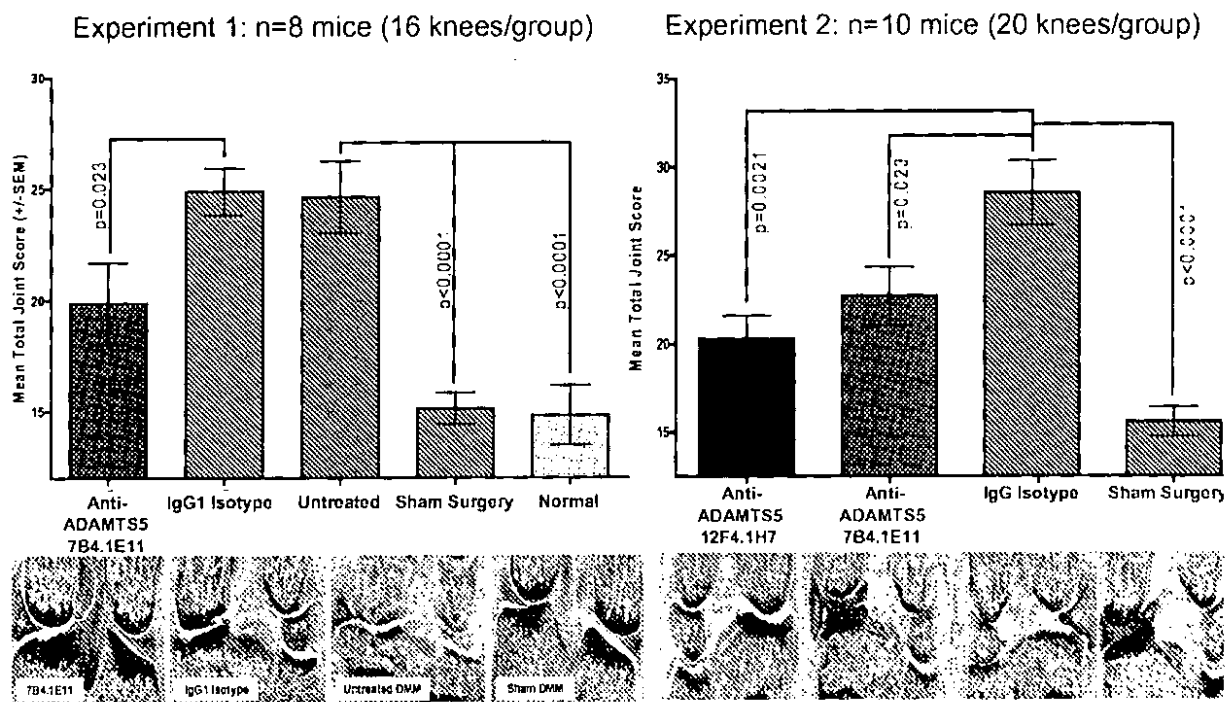


Figure 4: Amino Acid sequence of Human ADAMTS5

MLLGWASLLILCAFRLLPLAAVGPAAATPAQDKAGQPPTAAAAAQPR
RRQGEVQERAFPPGHPLAQRRRSKGLVQNIQLYSGGGKVGYLVIYAGGRRFLDL
ERDGSVGIAGFVPAGGGTSAPWRHRSHCFYRGTVDGSPRSLAVFDLCGGLDGFFAVKH
ARYTLKPLLRGPWAEFEKGRVYGDGSARILHVTREGFSFEALPPRASCETPASTPEA
HEHAPAHSNPSGRAALASQLLDQSALS PAGGSGPQTWRRRRRSISRARQVELLLVAD
ASMARIYGRGLQHLYLLTLASIANRLYSHASIENHIRLAVVKKVVLGDKDKSLEVSKNA
ATTILKNFCKWQHQNQLGDDHEEHYDAAILFTREDLCGHHSCDTLGMADVGTICSPER
SCAVIEDDGLHAAFTVAHEIGHLLGLSHDDSKFCEETFGSTEDKRLMSSILTSIDASK
PWSKCTSATITEFIIDGHNCLLDLPRKQILGPEELPGQTYDATQQCNLTFGPEYSVC
PGMDVCARLWCNAVVRQGMVCLTKKLPAVEGTPCGKGRICLQGKCVDTKKKYSTSS
HGNWGSWGSWGQCSRSCGGGVQFAYRHNNPAPRNNGRYCTGKRAIYRSCSLMPCPPN
GKSFREHQCEAKNGYQSDAKGVKTFVEWVPKYAGVLPADVCKLTCRAKGTGYVVFSP
KVTDGTECRLYSNSVCVRGKCVRTGCDGIIGSKLQYDKCGVCGDNSSCTKIVGTFNK
KSKGYTDVVRIPEGATHIKVRQFKAKDQTRFTAYLALKKKNGEYLINGKYMISTSETI
IDINGTVMNYSWWSHRDDFLHGMGYSATKEILIVQILATDPTKPI.DVRYSEFFVPPKST
PKVNSVTSHGSKNVGSHTSQPQWVTGPWLACSRCTCTGWHTRTVQCQDGNRKLAKGCP
LSQRPSAFKQCLLKCC (Seq ID NO:43)

Figure 5: Amino Acid sequence of Unprocessed Human ADAMTS4

1 msqtgshpgr glagrwlwga qpclllpivp lswlvwllll llasllpsar lasplpreee
61 ivfpeklngs vlpqsgapar llcrlqafge tlilleleqds gvqveglvtq ylgqapellg
121 gaepgtyltg tingdpesva sihwdggall gvlqyrqael hlqpleggtp nsagpgahi
181 lrrkspasgq gpmcnvkapl gsp sprrra krfa slsrfv etlvvaddkm aafhgaglkr
241 ylltvmaaaa kafkhpsirn pvslvtrlv ilgsgeegpq vgpsaaqtlr sfcawqrgln
301 tpedsgpdhf dtailftrqd lcgvstcdtl gmadvgtvcd parscaived dglqsafataa
361 helghvfnml hdnskpclsl ngplstsrhv mapvmahvdp eepwspcsar fitdfldngy
421 ghclldkpea plhlptvtfpg kdydadrqcg ltfqpd srhc pqlpppcaal wsglhlngha
481 mcqtkhspwa dgtpcgpaga cmggrcclhmd qlqdfnlpqa ggwgpgwpgw dcsrtcgggv
541 qfssrdctrp vprnggkyce grtrfrscn tedcptgsal tfreeqcaay nhrtldlfsf
601 pgpmdwvpry tgvapqdqck ltcqaralgy yyvleprvvd gtpcspdsas vcvqgrciha
661 gcdriigskk kfdkcmvcgg dgsgcskqsg sfrkfrygyn nvvtipagat hilvrqqgnp
721 ghrsiylalk lpdgsyalng eytlmpstpd vvlpgavslr ysgataaset lshgplaqp
781 ltlqvlvagn pqdtrlrysf fvprptstp rptpqdlhr raqileilrr rpwagrak
(SEQ ID NO:44)

Figure 6

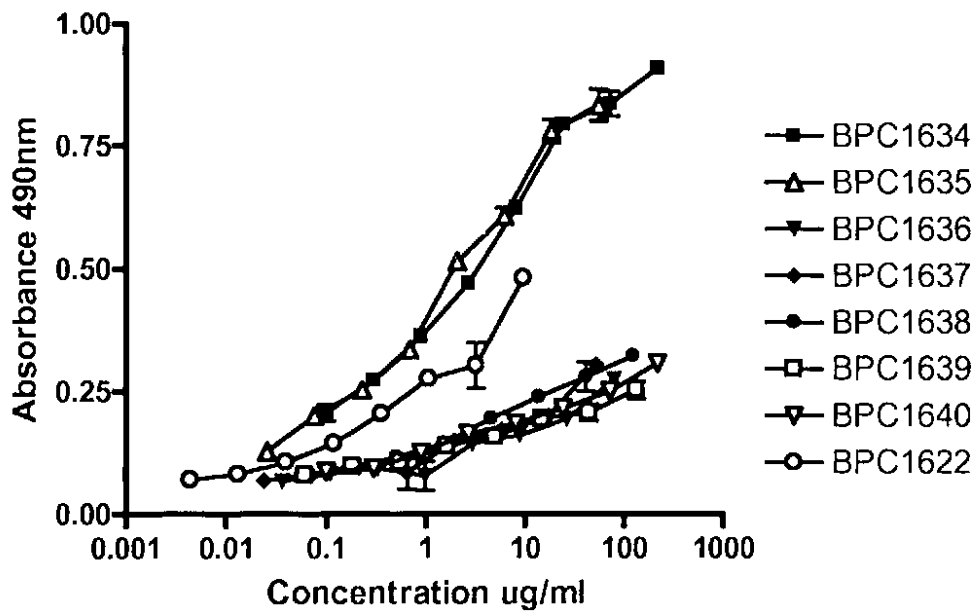


Figure 7

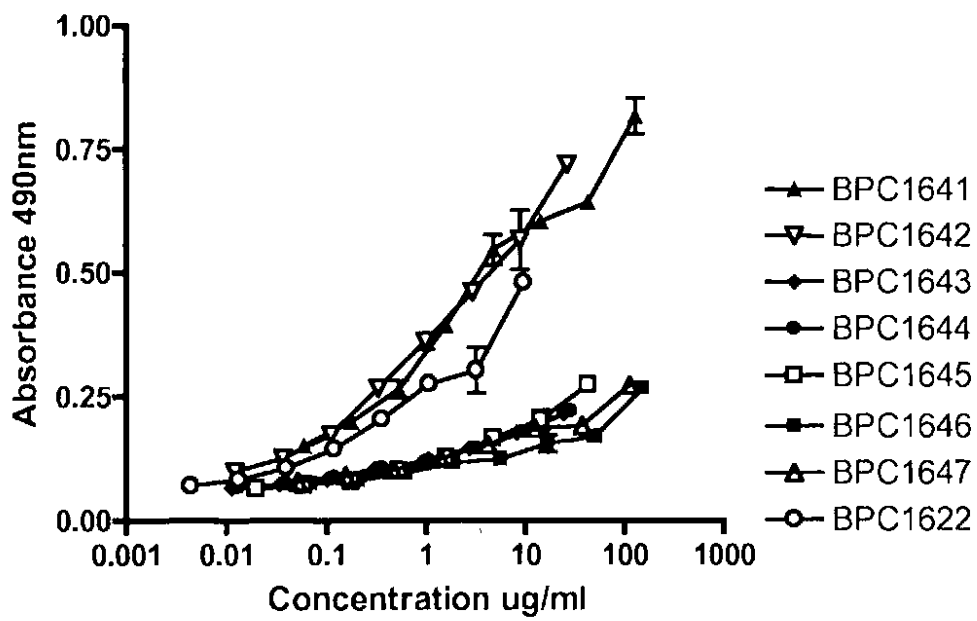


Figure 8

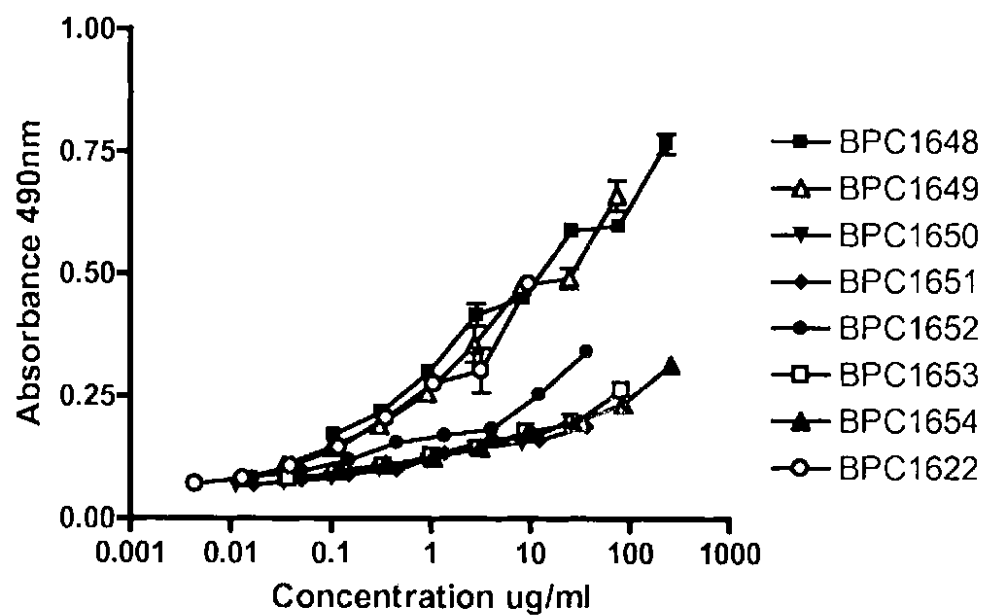
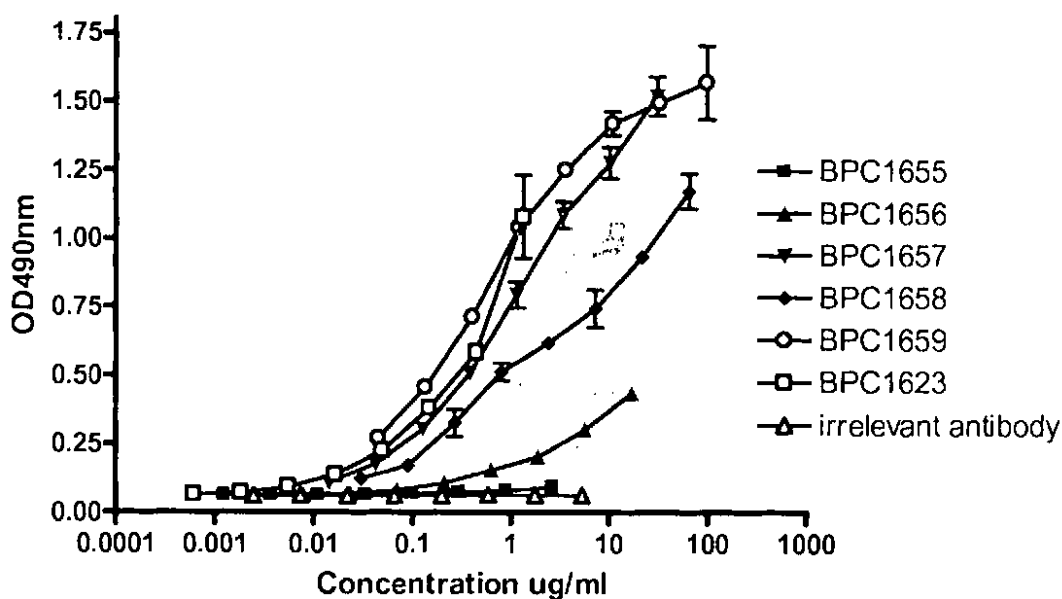


Figure 9



23

Figure 10

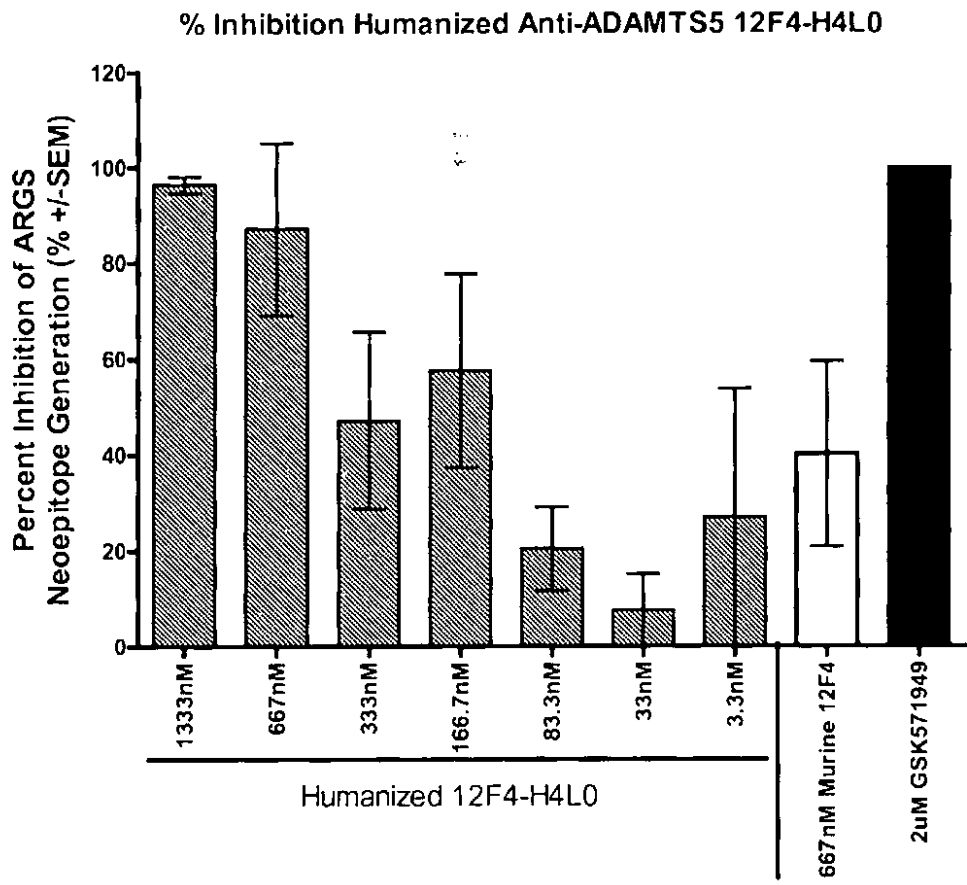
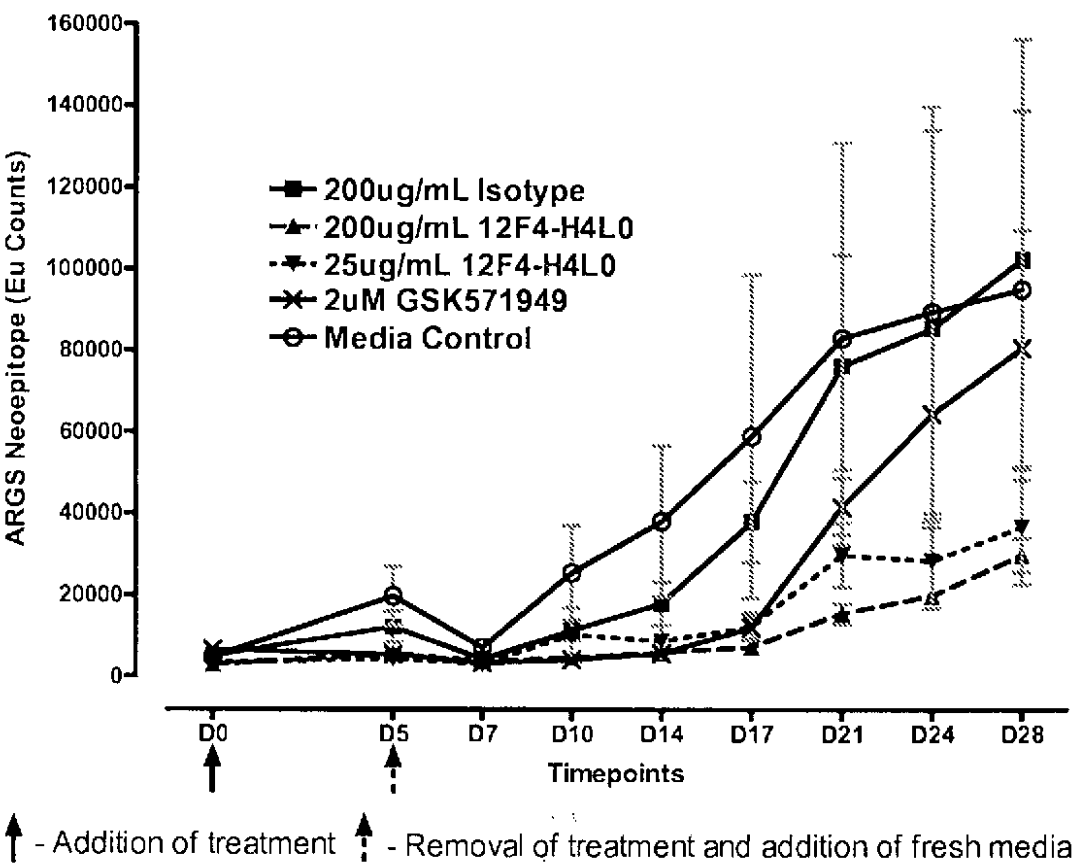


Figure 11



Q6

Figure 12

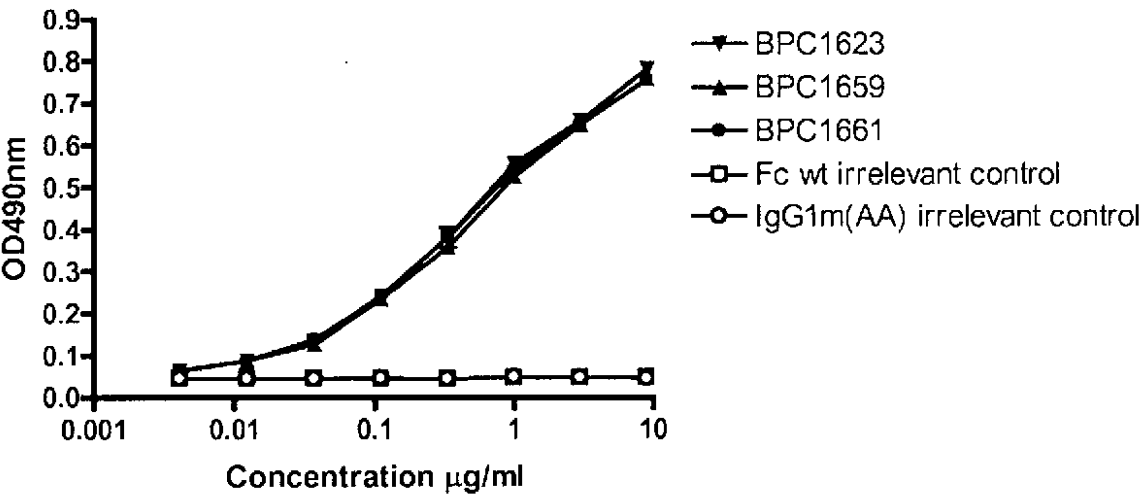


Figure 13

Structure modeling of Ag/Ab interaction between DAMTS5 and 12F4.1HmAb
Antigen Antibody Light chain

Antigen Antibody Heavy chain

Structure modeling of Ag/Ab interaction between DAMTS5 and 7B4.1HmAb

PU63739

SEQUENCE LISTING

<110> GLAXO GROUP LIMITED

LARKIN, Jonathan

HAMBLIN, Paul

BURDEN, Neil

WHITE, John

<120> Polypeptides and Method of Treatment

<130> PU63739

<140> Not Yet Assigned

<141> 2010-07-02

<150> 61/249,757

<151> 2009-10-08

<150> 61/222,521

<151> 2009-07-02

<160> 159

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 1

Ala Arg Gly Ser Val Ile Leu

1

5

PU63739

<210> 2
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> CDR

<400> 2
Asp Ala Trp Met Asp
1 5

<210> 3
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> CDR

<220>
<221> VARIANT
<222> 14
<223> Xaa = Any Amino Acid

<400> 3
Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Xaa Glu Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly

<210> 4
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

PU63739

<220>

<223> CDR

<400> 4

Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp Val
1 5 10

<210> 5

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 5

Pro Phe Ala Tyr
1

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 6

Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Thr Ile Val
1 5 10

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

PU63739

<220>

<223> CDR

<400> 7

Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 8

Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = Any Amino Acid

<400> 9

Ser Ala Ser Asn Arg Xaa Thr
1 5

PU63739

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 10

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe Thr

1

5

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 11

Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp Thr

1

5

<210> 12

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 12

Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Ala Glu Ser

1

5

10

15

Val Lys Gly

PU63739

<210> 13

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 13

Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 14

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 14

Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp Tyr Ala Ile Phe Tyr Asp Glu Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 15

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

PU63739

<400> 15

Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly

<210> 16

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 16

Asp Ile Arg Asn Thr Ala Asn Asn His Ala Thr Phe Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly

<210> 17

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 17

Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly

<210> 18

PU63739

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 18

Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp Val
1 5 10

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 19

Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Thr Ile Val
1 5 10

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 20

Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 21

PU63739

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 21

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Val

1 5 10

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 22

Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 23

Ser Ala Ser Asn Arg His Thr

1 5

<210> 24

52

PU63739

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 24

Ser Ala Ser Thr Arg Tyr Thr
1 5

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 25

Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 26

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 27

PU63739

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 27

Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp Thr

1

5

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 28

Gln Gln Tyr Val Asn Tyr Pro Phe Thr

1

5

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 29

Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Phe Thr

1

5

<210> 30

PU63739

<211> 115
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<220>
<221> VARIANT
<222> 63
<223> Xaa = Any Amino Acid

<400> 30
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Xaa Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ile
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala
115

<210> 31
<211> 109
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

PU63739

<220>

<221> VARIANT

<222> 55

<223> Xaa = Any Amino Acid

<400> 31

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Val Thr Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Thr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Xaa Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Asn Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala
100 105

<210> 32

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 32

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu
50 55 60

PU63739

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ile
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
 85 90 95
Tyr Cys Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
Val Ser Ala
 115

<210> 33

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 33

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Gly Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Phe Ser Asp Ala
 20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
Ala Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Ala Glu
 50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
 85 90 95
Tyr Cys Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
Val Ser Ala
 115

<210> 34

<211> 115

PU63739

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 34

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Asp Ile Arg Asn Thr Ala Asn Asn His Ala Thr Phe Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Thr
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala
115

<210> 35

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 35

Glu Val Lys Phe Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val

15/110

35

PU63739

```

      35              40              45
Ala Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp Tyr Ala Ile Phe Tyr Asp Glu
      50              55              60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ile
65              70              75              80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
      85              90              95
Tyr Cys Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
      100              105              110
Val Ser Ala
      115
```

<210> 36

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 36

```

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1              5              10              15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
      20              25              30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35              40              45
Ala Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu
      50              55              60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ile
65              70              75              80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
      85              90              95
Tyr Cys Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
      100              105              110
Val Ser Ala
      115
```

PU63739

<210> 37

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 37

Glu	Val	Lys	Leu	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly				
1				5					10					15					
Ser	Met	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Ser	Ser	Asp	Ala				
			20					25						30					
Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ser	Pro	Glu	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val				
		35				40						45							
Ala	Glu	Ile	Arg	Asn	Lys	Ala	Asn	Asn	His	Ala	Arg	His	Tyr	Ala	Glu				
	50				55					60									
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Ser	Ser				
65				70					75					80					
Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Ser	Gly	Ile	Tyr				
			85					90						95					
Tyr	Cys	Thr	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Cys	Asp				
		100						105						110					
Val	Trp	Gly	Thr	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
		115					120												

<210> 38

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 38

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Gln	Lys	Phe	Met	Ser	Thr	Thr	Val	Gly				
1				5				10						15					

PU63739

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Arg Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Val Asn Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala
100 105

<210> 39

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 39

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Val Thr Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Thr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala
100 105

PU63739

<210> 40

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 40

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Arg Phe Met Ser Val Thr Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Thr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Thr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Asn Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala
100 105

<210> 41

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 41

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val

PU63739

35	40	45	
Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Ser Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp			
85	90	95	
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala			
100	105		

<210> 42

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 42

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Val Thr Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Thr			
20	25	30	
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile			
35	40	45	
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Asn Asn Val Gln Ser			
65	70	75	80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Phe			
85	90	95	
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala			
100	105		

<210> 43

<211> 930

<212> PRT

PU63739

<213> Homo sapien

<400> 43

Met Leu Leu Gly Trp Ala Ser Leu Leu Leu Cys Ala Phe Arg Leu Pro
1 5 10 15
Leu Ala Ala Val Gly Pro Ala Ala Thr Pro Ala Gln Asp Lys Ala Gly
20 25 30
Gln Pro Pro Thr Ala Ala Ala Ala Ala Gln Pro Arg Arg Arg Gln Gly
35 40 45
Glu Glu Val Gln Glu Arg Ala Glu Pro Pro Gly His Pro His Pro Leu
50 55 60
Ala Gln Arg Arg Arg Ser Lys Gly Leu Val Gln Asn Ile Asp Gln Leu
65 70 75 80
Tyr Ser Gly Gly Gly Lys Val Gly Tyr Leu Val Tyr Ala Gly Gly Arg
85 90 95
Arg Phe Leu Leu Asp Leu Glu Arg Asp Gly Ser Val Gly Ile Ala Gly
100 105 110
Phe Val Pro Ala Gly Gly Gly Thr Ser Ala Pro Trp Arg His Arg Ser
115 120 125
His Cys Phe Tyr Arg Gly Thr Val Asp Gly Ser Pro Arg Ser Leu Ala
130 135 140
Val Phe Asp Leu Cys Gly Gly Leu Asp Gly Phe Phe Ala Val Lys His
145 150 155 160
Ala Arg Tyr Thr Leu Lys Pro Leu Leu Arg Gly Pro Trp Ala Glu Glu
165 170 175
Glu Lys Gly Arg Val Tyr Gly Asp Gly Ser Ala Arg Ile Leu His Val
180 185 190
Tyr Thr Arg Glu Gly Phe Ser Phe Glu Ala Leu Pro Pro Arg Ala Ser
195 200 205
Cys Glu Thr Pro Ala Ser Thr Pro Glu Ala His Glu His Ala Pro Ala
210 215 220
His Ser Asn Pro Ser Gly Arg Ala Ala Leu Ala Ser Gln Leu Leu Asp
225 230 235 240
Gln Ser Ala Leu Ser Pro Ala Gly Gly Ser Gly Pro Gln Thr Trp Trp
245 250 255
Arg Arg Arg Arg Arg Ser Ile Ser Arg Ala Arg Gln Val Glu Leu Leu
260 265 270
Leu Val Ala Asp Ala Ser Met Ala Arg Leu Tyr Gly Arg Gly Leu Gln
275 280 285

21/110

58

PU63739

```
His Tyr Leu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Ala Asn Arg Leu Tyr Ser His
  290                      295                      300
Ala Ser Ile Glu Asn His Ile Arg Leu Ala Val Val Lys Val Val Val
305                      310                      315                      320
Leu Gly Asp Lys Asp Lys Ser Leu Glu Val Ser Lys Asn Ala Ala Thr
                      325                      330                      335
Thr Leu Lys Asn Phe Cys Lys Trp Gln His Gln His Asn Gln Leu Gly
                      340                      345                      350
Asp Asp His Glu Glu His Tyr Asp Ala Ala Ile Leu Phe Thr Arg Glu
                      355                      360                      365
Asp Leu Cys Gly His His Ser Cys Asp Thr Leu Gly Met Ala Asp Val
                      370                      375                      380
Gly Thr Ile Cys Ser Pro Glu Arg Ser Cys Ala Val Ile Glu Asp Asp
385                      390                      395                      400
Gly Leu His Ala Ala Phe Thr Val Ala His Glu Ile Gly His Leu Leu
                      405                      410                      415
Gly Leu Ser His Asp Asp Ser Lys Phe Cys Glu Glu Thr Phe Gly Ser
                      420                      425                      430
Thr Glu Asp Lys Arg Leu Met Ser Ser Ile Leu Thr Ser Ile Asp Ala
                      435                      440                      445
Ser Lys Pro Trp Ser Lys Cys Thr Ser Ala Thr Ile Thr Glu Phe Leu
                      450                      455                      460
Asp Asp Gly His Gly Asn Cys Leu Leu Asp Leu Pro Arg Lys Gln Ile
465                      470                      475                      480
Leu Gly Pro Glu Glu Leu Pro Gly Gln Thr Tyr Asp Ala Thr Gln Gln
                      485                      490                      495
Cys Asn Leu Thr Phe Gly Pro Glu Tyr Ser Val Cys Pro Gly Met Asp
                      500                      505                      510
Val Cys Ala Arg Leu Trp Cys Ala Val Val Arg Gln Gly Gln Met Val
                      515                      520                      525
Cys Leu Thr Lys Lys Leu Pro Ala Val Glu Gly Thr Pro Cys Gly Lys
                      530                      535                      540
Gly Arg Ile Cys Leu Gln Gly Lys Cys Val Asp Lys Thr Lys Lys Lys
545                      550                      555                      560
Tyr Tyr Ser Thr Ser Ser His Gly Asn Trp Gly Ser Trp Gly Ser Trp
                      565                      570                      575
Gly Gln Cys Ser Arg Ser Cys Gly Gly Gly Val Gln Phe Ala Tyr Arg
                      580                      585                      590
His Cys Asn Asn Pro Ala Pro Arg Asn Asn Gly Arg Tyr Cys Thr Gly
```

22/110

PU63739

595	600	605
Lys Arg Ala Ile Tyr Arg Ser Cys Ser Leu Met Pro Cys Pro Pro Asn		
610	615	620
Gly Lys Ser Phe Arg His Glu Gln Cys Glu Ala Lys Asn Gly Tyr Gln		
625	630	635
Ser Asp Ala Lys Gly Val Lys Thr Phe Val Glu Trp Val Pro Lys Tyr		
645	650	655
Ala Gly Val Leu Pro Ala Asp Val Cys Lys Leu Thr Cys Arg Ala Lys		
660	665	670
Gly Thr Gly Tyr Tyr Val Val Phe Ser Pro Lys Val Thr Asp Gly Thr		
675	680	685
Glu Cys Arg Leu Tyr Ser Asn Ser Val Cys Val Arg Gly Lys Cys Val		
690	695	700
Arg Thr Gly Cys Asp Gly Ile Ile Gly Ser Lys Leu Gln Tyr Asp Lys		
705	710	715
Cys Gly Val Cys Gly Gly Asp Asn Ser Ser Cys Thr Lys Ile Val Gly		
725	730	735
Thr Phe Asn Lys Lys Ser Lys Gly Tyr Thr Asp Val Val Arg Ile Pro		
740	745	750
Glu Gly Ala Thr His Ile Lys Val Arg Gln Phe Lys Ala Lys Asp Gln		
755	760	765
Thr Arg Phe Thr Ala Tyr Leu Ala Leu Lys Lys Lys Asn Gly Glu Tyr		
770	775	780
Leu Ile Asn Gly Lys Tyr Met Ile Ser Thr Ser Glu Thr Ile Ile Asp		
785	790	795
Ile Asn Gly Thr Val Met Asn Tyr Ser Gly Trp Ser His Arg Asp Asp		
805	810	815
Phe Leu His Gly Met Gly Tyr Ser Ala Thr Lys Glu Ile Leu Ile Val		
820	825	830
Gln Ile Leu Ala Thr Asp Pro Thr Lys Pro Leu Asp Val Arg Tyr Ser		
835	840	845
Phe Phe Val Pro Lys Lys Ser Thr Pro Lys Val Asn Ser Val Thr Ser		
850	855	860
His Gly Ser Asn Lys Val Gly Ser His Thr Ser Gln Pro Gln Trp Val		
865	870	875
Thr Gly Pro Trp Leu Ala Cys Ser Arg Thr Cys Asp Thr Gly Trp His		
885	890	895
Thr Arg Thr Val Gln Cys Gln Asp Gly Asn Arg Lys Leu Ala Lys Gly		
900	905	910

23/110

39

PU63739

Cys Pro Leu Ser Gln Arg Pro Ser Ala Phe Lys Gln Cys Leu Leu Lys
915 920 925
Lys Cys
930

<210> 44
<211> 837
<212> PRT
<213> Homo sapien

<400> 44
Met Ser Gln Thr Gly Ser His Pro Gly Arg Gly Leu Ala Gly Arg Trp
1 5 10 15
Leu Trp Gly Ala Gln Pro Cys Leu Leu Leu Pro Ile Val Pro Leu Ser
20 25 30
Trp Leu Val Trp Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ser Leu Leu Pro Ser
35 40 45
Ala Arg Leu Ala Ser Pro Leu Pro Arg Glu Glu Glu Ile Val Phe Pro
50 55 60
Glu Lys Leu Asn Gly Ser Val Leu Pro Gly Ser Gly Ala Pro Ala Arg
65 70 75 80
Leu Leu Cys Arg Leu Gln Ala Phe Gly Glu Thr Leu Leu Leu Glu Leu
85 90 95
Glu Gln Asp Ser Gly Val Gln Val Glu Gly Leu Thr Val Gln Tyr Leu
100 105 110
Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ala Glu Pro Gly Thr Tyr Leu
115 120 125
Thr Gly Thr Ile Asn Gly Asp Pro Glu Ser Val Ala Ser Leu His Trp
130 135 140
Asp Gly Gly Ala Leu Leu Gly Val Leu Gln Tyr Arg Gly Ala Glu Leu
145 150 155 160
His Leu Gln Pro Leu Glu Gly Gly Thr Pro Asn Ser Ala Gly Gly Pro
165 170 175
Gly Ala His Ile Leu Arg Arg Lys Ser Pro Ala Ser Gly Gln Gly Pro
180 185 190
Met Cys Asn Val Lys Ala Pro Leu Gly Ser Pro Ser Pro Arg Pro Arg
195 200 205
Arg Ala Lys Arg Phe Ala Ser Leu Ser Arg Phe Val Glu Thr Leu Val

PU63739

210	215	220
Val Ala Asp Asp Lys Met	Ala Ala Phe His Gly Ala Gly Leu Lys Arg	
225	230	235
240		
Tyr Leu Leu Thr Val Met Ala Ala Ala Ala Lys Ala Phe Lys His Pro		
245	250	255
Ser Ile Arg Asn Pro Val Ser Leu Val Val Thr Arg Leu Val Ile Leu		
260	265	270
Gly Ser Gly Glu Glu Gly Pro Gln Val Gly Pro Ser Ala Ala Gln Thr		
275	280	285
Leu Arg Ser Phe Cys Ala Trp Gln Arg Gly Leu Asn Thr Pro Glu Asp		
290	295	300
Ser Gly Pro Asp His Phe Asp Thr Ala Ile Leu Phe Thr Arg Gln Asp		
305	310	315
320		
Leu Cys Gly Val Ser Thr Cys Asp Thr Leu Gly Met Ala Asp Val Gly		
325	330	335
Thr Val Cys Asp Pro Ala Arg Ser Cys Ala Ile Val Glu Asp Asp Gly		
340	345	350
Ileu Gln Ser Ala Phe Thr Ala Ala His Glu Leu Gly His Val Phe Asn		
355	360	365
Met Leu His Asp Asn Ser Lys Pro Cys Ile Ser Leu Asn Gly Pro Leu		
370	375	380
Ser Thr Ser Arg His Val Met Ala Pro Val Met Ala His Val Asp Pro		
385	390	395
400		
Glu Glu Pro Trp Ser Pro Cys Ser Ala Arg Phe Ile Thr Asp Phe Leu		
405	410	415
Asp Asn Gly Tyr Gly His Cys Leu Leu Asp Lys Pro Glu Ala Pro Leu		
420	425	430
His Leu Pro Val Thr Phe Pro Gly Lys Asp Tyr Asp Ala Asp Arg Gln		
435	440	445
Cys Gln Leu Thr Phe Gly Pro Asp Ser Arg His Cys Pro Gln Leu Pro		
450	455	460
Pro Pro Cys Ala Ala Leu Trp Cys Ser Gly His Leu Asn Gly His Ala		
465	470	475
480		
Met Cys Gln Thr Lys His Ser Pro Trp Ala Asp Gly Thr Pro Cys Gly		
485	490	495
Pro Ala Gln Ala Cys Met Gly Gly Arg Cys Leu His Met Asp Gln Leu		
500	505	510
Gln Asp Phe Asn Ile Pro Gln Ala Gly Gly Trp Gly Pro Trp Gly Pro		
515	520	525

PU63739

Trp Gly Asp Cys Ser Arg Thr Cys Gly Gly Gly Val Gln Phe Ser Ser
530 535 540
Arg Asp Cys Thr Arg Pro Val Pro Arg Asn Gly Gly Lys Tyr Cys Glu
545 550 555 560
Gly Arg Arg Thr Arg Phe Arg Ser Cys Asn Thr Glu Asp Cys Pro Thr
565 570 575
Gly Ser Ala Leu Thr Phe Arg Glu Glu Gln Cys Ala Ala Tyr Asn His
580 585 590
Arg Thr Asp Leu Phe Lys Ser Phe Pro Gly Pro Met Asp Trp Val Pro
595 600 605
Arg Tyr Thr Gly Val Ala Pro Gln Asp Gln Cys Lys Leu Thr Cys Gln
610 615 620
Ala Arg Ala Leu Gly Tyr Tyr Tyr Val Leu Glu Pro Arg Val Val Asp
625 630 635 640
Gly Thr Pro Cys Ser Pro Asp Ser Ser Ser Val Cys Val Gln Gly Arg
645 650 655
Cys Ile His Ala Gly Cys Asp Arg Ile Ile Gly Ser Lys Lys Lys Phe
660 665 670
Asp Lys Cys Met Val Cys Gly Gly Asp Gly Ser Gly Cys Ser Lys Gln
675 680 685
Ser Gly Ser Phe Arg Lys Phe Arg Tyr Gly Tyr Asn Asn Val Val Thr
690 695 700
Ile Pro Ala Gly Ala Thr His Ile Leu Val Arg Gln Gln Gly Asn Pro
705 710 715 720
Gly His Arg Ser Ile Tyr Leu Ala Leu Lys Leu Pro Asp Gly Ser Tyr
725 730 735
Ala Leu Asn Gly Glu Tyr Thr Leu Met Pro Ser Pro Thr Asp Val Val
740 745 750
Leu Pro Gly Ala Val Ser Leu Arg Tyr Ser Gly Ala Thr Ala Ala Ser
755 760 765
Glu Thr Leu Ser Gly His Gly Pro Leu Ala Gln Pro Leu Thr Leu Gln
770 775 780
Val Leu Val Ala Gly Asn Pro Gln Asp Thr Arg Leu Arg Tyr Ser Phe
785 790 795 800
Phe Val Pro Arg Pro Thr Pro Ser Thr Pro Arg Pro Thr Pro Gln Asp
805 810 815
Trp Leu His Arg Arg Ala Gln Ile Leu Glu Ile Leu Arg Arg Arg Pro
820 825 830
Trp Ala Gly Arg Lys

PU63739

835

<210> 45

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Signal sequence

<400> 45

atgggctggg cctgcatcat cctgtttctg gtggccaccg ccaccggcgt gcacagc 57

<210> 46

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Signal sequence

<400> 46

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

Val His Ser

<210> 47

<211> 372

<212> DNA

<213> Murine

<400> 47

gaagtgaagc ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60
tcttqtgctg cctctggatt cacttctagt gacgcttga tggactgggt ccgccagtct 120
ccagaaaagg ggcttgagtg ggttgcctgaa attagaaaca aagctaataa tcatgcaaga 180
cactatgctg agtctgtgaa agggagggtc accatctcaa gagatgattc caaaagtagt 240

27/110

PU63739

gtctacctgc aaatgaacag cttaagagct gaagactctg gcatttatta ctgtaccagg 300
acgtattatt acggtagcag ctacggatac tgcgatgtct ggggcacagg gaccacggtc 360
accgtctcct ca 372

<210> 48
<211> 124
<212> PRT
<213> Murine

<400> 48
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ser Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Ser Gly Ile Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Arg Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp
100 105 110
Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 49
<211> 327
<212> DNA
<213> Murine

<400> 49
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60
atcacatgtc gaacaagtga gaatatattac agttatttag catgglatca gcagaaacag 120
ggaaaatctc ctacgctcct ggtctataat gcaaaaacct tagcagaagg tgtgccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag ttttctctga agatcaacag cctgcagcct 240
gaagattttg ggagttatcc ctgtcaacat cattatggta ctccgtggac gttcggtgga 300

PU63739

ggcaccaagc tggaaatcaa acgggct 327

<210> 50
<211> 109
<212> PRT
<213> Murine

<400> 50
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45
Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Ser Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala
100 105

<210> 51
<211> 345
<212> DNA
<213> Murine

<400> 51
gaagtgaagc ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60
tctgtactg cctccggatt cacttttagt gacgootgga tggactgggt ccgccagtct 120
ccagagaagg gacttgagtg ggttgctgaa attagacaca aagctaataa tcatgcaata 180
ttttatgatg agtctgtgaa agggagggtc accatctcaa gagatgattc caaaaatatt 240
gtctatctgc aaatgaacag tttaagacct gaggacaccg gcatttatta ttgtaccagt 300
ccttttgctt attggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 52
<211> 115

PU63739

<212> PRT

<213> Murine

<400> 52

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ile
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala
115

<210> 53

<211> 327

<212> DNA

<213> Murine

<400> 53

gacattgtga tgacccagtc tcaaaaattc atgtccgtaa cagtgggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtca gaglgtggga actactatag tctggtatca acagaaacca 120
ggacaatctc cttaaattact gatttactct gcacccaatc ggcacactgg ggtccctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcattctca ccattaacaa tgtgcagtc 240
gaggacctgg cagattatit ctgtcagcaa tatacctect atccattcac gticggctcg 300
gggacaaagt tggagataaa acgggct 327

<210> 54

<211> 109

<212> PRT

<213> Murine

PU63739

<400> 54

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Gln	Lys	Phe	Met	Ser	Val	Thr	Val	Gly
1				5				10						15	
Asp	Arg	Val	Ser	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Gly	Thr	Thr
			20					25					30		
Ile	Val	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
			35				40					45			
Tyr	Ser	Ala	Ser	Asn	Arg	His	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly
		50				55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Ile	Leu	Thr	Ile	Asn	Asn	Val	Gln	Ser
65					70					75				80	
Glu	Asp	Leu	Ala	Asp	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Tyr	Thr	Ser	Tyr	Pro	Phe
				85						90				95	
Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Ala			
			100							105					

<210> 55

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 55

Asp	Ala	Trp	Met	Asp
1			5	

<210> 56

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

PU63739

<400> 56

Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly

<210> 57

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 57

Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp Val
1 5 10

<210> 58

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 58

Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

PU63739

<223> CDR

<400> 59

Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 60

Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 61

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 61

Asp Ala Trp Met Asp

1 5

<210> 62

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

PU63739

<223> CDR

<400> 62

Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly

<210> 63

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 63

Pro Phe Ala Tyr
1

<210> 64

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 64

Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Thr Ile Val
1 5 10

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

PU63739

<220>

<223> CDR

<400> 65

Ser Ala Ser Asn Arg His Thr

1

5

<210> 66

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDR

<400> 66

Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Phe Thr

1

5

<210> 67

<211> 1362

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 67

gaggtgaagc tggaggaatc aggaggcgga ctggtgcagc ccggcggcag catgaaactg 60
agctgcgctg cctctggctt caccagctct gacgcctgga tggattgggt gaggcagagc 120
cccgaqaagg gcctggagtg ggtggccgag atcaggaaca aggccaaaca ccaogccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa gggcagggtt accatcagca gggacgacag caagagctcc 240
gtgtacctgc agalqaacag cctccgggcc gaggacagcg gcctctacta ctgcaccagg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggaaccgg cacactagtg 360
accgtgtcca gcgccagcac caagggcccc agcgtgttcc cctggcccc cagcagcaag 420
agcaccagcg ggggcacagc cgccttgggc tgccctggtga aggactactt ccccgaaacc 480

35/110

65

PU63739

gtgaccgtgt cctggaacag cggagccctg accagcggcg tgcacacctt ccccgccgtg 540
ctgcagagca ggggcctgta cagcctgagc agcgtggtga ccgtgcccag cagcagccctg 600
ggcaccacaga cctacatctg taacgtgaac cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 660
aaggtggagc ccaagagctg tgacaagacc cacacctgcc ccccttgccc tgcccccgag 720
ctgctgggag gccccagcgt gttcctgttc cccccaagc ctaaggacac cctgatgata 780
agcagaaccc ccgaggtgac ctgtgtggtg gtggatgtga gccacgagga ccctgaggtg 840
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcacaatg ccaagaccaa gccagggag 900
gagcagtaca acagcaccta ccgggtggtg tccgtgctga ccgtgctgca ccaggattgg 960
ctgaacggca aggagtacaa gtgtaagggtg tccaacaagg ccctgcctgc ccctatcgag 1020
aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc agagagcccc aggtgtacac cctgccccct 1080
agcagagatg agctgaccaa gaaccaggtg tccctgacct gcctggtgaa gggcttctac 1140
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc 1200
acccccctg tgctggacag cgatggcagc ttcttctgt acagcaagct gaccgtggac 1260
aagagcagat ggcagcaggg caacgtgttc agctgctccg tgatgcacga ggcctgcac 1320
aatcactaca ccagaagag cctgagccctg tccccggca ag 1362

<210> 68

<211> 454

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 68

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ser Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Ser Gly Ile Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Arg Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp
100 105 110

PU63739

Val Trp Gly Thr Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
130 135 140
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
195 200 205
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
210 215 220
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225 230 235 240
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
245 250 255
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
260 265 270
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
275 280 285
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
290 295 300
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305 310 315 320
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
325 330 335
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
355 360 365
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

37/110

PU63739

	420		425		430										
Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu
	435		440		445										
Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys										
	450														

<210> 69
<211> 642
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

<400> 69
gacatccaga tgacccagag ccccgccagc ctgagcgcaa gcgtgggcga gaccgtcacc 60
atcacctgca ggaccagcga gaacatctac agctacctgg cctgggtatca gcagaagcag 120
ggcaagagcc ccagctgct ggtgtacaac gccaaaaccc tggccgaagg cgtgccctct 180
aggttcagcg gaagcggaag cggcacccag ttcagcctca agatcaactc cctgcagccc 240
gaggacttcg gcagctacag ctgccagcac cactacggca ctccctggac ctllggcggc 300
ggcaccaage tggagattaa gcgtacgggtg gccgccccca gcgtgttcat ctcccccccc 360
agcgatgagc agctgaagag cggcacccgc agcgtggtgt gtctgctgaa caacttctac 420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaatgcc tgcagagcgg caacagccag 480
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagL qc 642

<210> 70
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

<400> 70
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

PU63739

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45
Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Ser Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 71

<211> 1335

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 71

gaggtgaaac tggaggaaag cggcggcgga ctggtgcagc cggcgggctc aatgaagctg 60
agctgcaccg ccagcggett cactttctct gacgcctgga tggactgggt gaggcagagc 120

39/110

PU63739

cccgagaagg gcctggagtg ggtggctgag atcaggcaca aggccaaacga ccacgccatc 180
llctacgacg agagcgtgaa gggcaggttc accatcagca gggacgacag caagaacatc 240
gtgtacctcc agatgaacag cctgaggccc gaggataccg gcattacta ctgcaccagc 300
ccclltgcct attggggcca gggcacacta gtgaccgtgt ccagcgccag caccaagggc 360
cccagcgtgt lccccctggc cccagcaggc aagagcacca gcggcgggcac agccgcccctg 420
ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgaa ccggtgaccg tgtcctggaa cagcggagcc 480
ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg 540
agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcagc ctgggcaccc agacctacat ctgtaacgtg 600
aaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaagggtg agcccaagag ctgtgacaag 660
accacacact gccccccctg cctgcccccc gagctgctgg gaggccccag cgtgttcctg 720
lcccccccca agcctaagga caccctgatg atcagcagaa cccccgaggt gacctgtgtg 780
gtggtggatg tgagccacga ggacctgag gtgaagtlca actggtacgt ggacggcgtg 840
gaggtgcaca atgccaagac caagcccagg gaggagcagt acaacagcac ctaccgggtg 900
gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggat tggctgaacg gcaaggagta caagtgtaa 960
gtgtccaaca aggcctgcc tgcccctatc gagaaaacca tcagcaaggc caagggccag 1020
cccagagagc cccaggtgta caccctgccc cctagcagag atgagctgac caagaaccag 1080
gtgtccctga cctgcctggt gaagggtctc tccccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaacggcc agcccagaa caactacaa accaccccc ctgtgctgga cagcgatggc 1200
agctttcttc tgtacagcaa gctgaccgtg gacaagagca gatggcagca gggcaacgtg 1260
ttcagctgct ccgtgatgca cgaggccctg cacaatcact acaccagaa gagcctgagc 1320
ctgtcccctg gcaag 1335

<210> 72
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 72
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu
50 55 60

PU63739

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ile
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205
Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

41/110

68

PU63739

370	375	380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly		
385	390	395
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		400
	405	410
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn		415
	420	425
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		430
	435	440
		445

<210> 73
<211> 642
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

<400> 73
gacatcgtga tgacccagag ccagaaattc atgagcgtga ccgtgggcga caggggtgtcc 60
atcacttgca aggccagcca gacggtgggc accactatcg tgtggtacca gcagaagccc 120
ggccagagcc ccaagctcct gatctacagc gccagcaaca ggcacaccgg agtgcccgac 180
aggltttactg gcagcggctc aggcaccgac ttcattctga ccattcaaaa cgtgcagagc 240
gaggacctgg ccgattactt ctgccagcag tacaccagct accccttcac cttcgggtca 300
gggaccaagc tggagattaa gcgtacgggtg gccgccccca gcgtgttcat ctccccccc 360
agcgatgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gtctgctgaa caacttctac 420
ccccgggagg ccaaggtgca gtqgaagggtg gacaatgcc tgcagagcgg caacagccag 480
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 74
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

PU63739

<400> 74

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Val Thr Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Thr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Asn Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 75

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

43/110

69

PU63739

<400> 75
gaggtgaagc tggaggaatc aggaggcgga ctggtgcagc ccggcggcag catgaaactg 60
agctgcgctg cctctggctt caccagctct gacgcctgga tggattgggt gaggcagagc 120
cccgagaagg gcctggagtg ggtggccgag atcaggaaca aggccaaca ccacgccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa gggcaggttc accatcagca gggacgacag caagagctcc 240
gtgtacctgc agatgaacag cctccgggcc gaggacagcg gcattacta ctgcaccagg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggaaccgg cacactagtc 360
accgtgagca gc 372

<210> 76
<211> 124
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 76
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ser Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Ser Gly Ile Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Arg Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp
100 105 110
Val Trp Gly Thr Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 77
<211> 327

PU63739

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 77

```
gacatccaga tgacccagag ccccgccagc ctgagcgcaa gcgtgggcga gaccgtcacc 60
atcacctgca ggaccagcga gaacatctac agctacctgg cctgggtatca gcagaagcag 120
ggcaagagcc cccagctgct ggtgtacaac gccaaaaccc tggccgaagg cgtgccctct 180
aggttcagcg gaagcggaag cggcaccagc ttcagcctca agatcaactc cctgcagccc 240
gaggacttcc gcagctacag ctgccagcac cactacggca ctccctggac ctttggcggc 300
ggcaccaagc tggagattaa gcgtacg                                     327
```

<210> 78

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 78

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1             5             10             15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
      20             25             30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
      35             40             45
Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
      50             55             60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro
      65             70             75             80
Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Ser Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp
      85             90             95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
      100             105
```

PU63739

<210> 79
<211> 345
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 79
gaggtgaaac tggaggaaag cggcggcgga ctggtgcagc ccggcggctc aatgaagctg 60
agctgcaccg ccagcggctt caccttctct gacgcctgga tggactgggt gaggcagagc 120
cccqagaagg gcctggagtg ggtggctgag atcaggcaca aggccaacga ccacgccatc 180
ttctacgacy agagcgtgaa gggcaggttc accatcagca gggacgacag caagaacatc 240
gtgtacctcc agatgaacag cctgaggccc gaggataccg gcattacta ctgcaccagc 300
ccctttgcct attggggcca gggcacacta gtcaccglgt ccagc 345

<210> 80
<211> 115
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 80
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ile
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

PU63739

Val Ser Ser

115

<210> 81

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 81

gacatcgtga tgaccacagag ccagaaattc atgagcgtga ccgtgggcga caggggtgtcc 60
atcacttgca aggccagcca gagcgtgggc accactatcg tgtggtacca gcagaagccc 120
ggccagagcc ccaagctcct gatctacagc gccagcaaca ggcacaccgg agtgcccgac 180
aggtttactg gcagcggctc aggcaccgac ttcatactga ccatcaacaa cgtgcagagc 240
gaggacctgg ccgattactt ctgccagcag tacaccagct accccttcac cttcggctca 300
gggaccaagc tggagattaa gcgtacg 327

<210> 82

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 82

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Val Thr Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Thr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Asn Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

47/110

21

PU63739

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 83
<211> 1362
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 83
gaggtgcagc tggtcgaaag cggcggcggc ctggtgcagc ccggaggcag cctcaggctg 60
tcttgcgctg cctccggctt caccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gcctggagtg ggtggccgag atcaggaaca aggccaaaca ccacgccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa ggggaggttc accatcagca gggacaacgc caagaacagc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaggacaccg ccgltgacta ctgcgcccgg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggccaggg cacactagtg 360
accgtgtcca ggcgcagcac caagggtccc agcgtgttcc cctggcccc cagcagcaag 420
agcaccagcg gcggcacagc cgccctgggc tgccctgggtga aggactactt ccccgaccgc 480
gtgaccgtgt cctggaacag cggagccctg accagcggcg tgcacacctt ccccgccgtg 540
ctgcagagca ggggcctgta cagcctgagc agcgtgggtga ccgtgcccag cagcagcctg 600
ggcaccacga cctacatctg taacgtgaac cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 660
aaggtggagc ccaagagctg tgacaagacc cacacctgcc cccctgcccc tgcccccgag 720
ctgctgggag gccccagcgt gtccctgttc ccccccaagc ctaaggacac cctgatgata 780
agcaqaaccc ccgaggtgac ctgtgtggtg gtggatgtga gccacgagga cctgaggtg 840
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcacaatg ccaagaccaa gcccagggag 900
gagcagtaca acagcaccta ccggtgtgtg tccgtgtgta ccgtgctgca ccaggatlgg 960
ctgaacgyc aaggagtaca gtgtaagggt tccaacaagg cctgcctgc cctatcgag 1020
aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc agagagcccc aggtgtacac cclgccccct 1080
agcagagatg agctgaccaa gaaccagggt tccctgacct gcctgggtgaa gggtctctac 1140
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aacgycagc ccgagaacaa ctacaagacc 1200
acccccctg tgctggacag cgatggcagc ttcttccgt acagcaagct gaccgtggac 1260
aagagcagat ggcagcaggg caacgtgttc agctgctccg tgatgcacga ggcctgcac 1320
aatcactaca ccagaagag cctgagcctg tccctggca ag 1362

PU63739

<210> 84

<211> 454

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 84

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	Asp	Ala
			20						25					30	
Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40						45		
Ala	Glu	Ile	Arg	Asn	Lys	Ala	Asn	Asn	His	Ala	Arg	His	Tyr	Ala	Glu
	50					55							60		
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser
65				70						75				80	
Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
				85						90				95	
Tyr	Cys	Ala	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Cys	Asp
		100							105					110	
Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
		115					120							125	
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly
	130					135						140			
Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
145				150						155				160	
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr
				165						170				175	
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val
		180						185						190	
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn
		195						200						205	
Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro
	210					215								220	
Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu
225				230						235				240	

PU63739

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
245 250 255
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
260 265 270
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
275 280 285
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
290 295 300
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305 310 315 320
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
325 330 335
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
355 360 365
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 85
<211> 1362
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 85

PU63739

gaggtgcagc tggtcgaaag cggcggcggc ctggtgcagc ccggaggcag cctcaggctg 60
tcttgcgctg cctccggcct cacccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggaagag gcctggagtg ggtggccgag atcaggaaca aggccaaaca ccacgccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa ggggagggtc accatcagca gggacaacgc caagaacagc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcacccgg 300
acctactact accggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggccaggg cactactagt 360
accgtgtcca gggccagcac caagggcccc agcgtgttcc cctggcccc cagcagcaag 420
agcaccagcg gcggcacagc cggcctgggc tgcctggtga aggactactt ccccgaaacc 480
gtgaccgtgt cctggaacag cggagccctg accagcggcg tgcacacctt ccccgccgtg 540
ctgcagagca gcggcctgta cagcctgagc agcgtggtga ccgtgcccag cagcagcctg 600
ggcaccaga cctacatctg taacgtgaac cacaagcccc gcaacaccaa ggtggacaag 660
aaggtggagc ccaagagctg tgacaagacc cacacctgcc cccctgcc tggccccgag 720
ctgctgggag gccccagcgt gtctctgttc ccccccaagc ctaaggacac cctgatgatc 780
agcagaacct ccgaggtgac ctgtgtggtg gtggatgtga gccacgagga cctgaggtg 840
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcacaatg ccaagaccaa gcccaggag 900
gagcagtaca acagcaccta cggggtggtg tccgtgctga ccgtgctgca ccaggattgg 960
ctgaacggca aggagtacaa gtgtaagggtg tccaacaagg ccctgcctgc ccctatcgag 1020
aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc agagagcccc aggtgtacac cctgccccct 1080
agcagagatg agctgaccaa gaaccagggtg tccctgacct gcctggtgaa gggctttctac 1140
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc 1200
acccccctg tgctggacag cgatggcagc ttcttctctgt acagcaagct gaccgtggac 1260
aagagcagat ggcagcaggg caacgtgttc agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac 1320
aatcaclaca ccagaagag cctgagcctg tccccggca ag 1362

<210> 86

<211> 454

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 86

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	Asp	Ala
			20					25					30		
Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40						45		

51/110

73

PU63739

Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Arg Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
130 135 140
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
195 200 205
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
210 215 220
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225 230 235 240
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
245 250 255
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
260 265 270
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
275 280 285
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
290 295 300
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305 310 315 320
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
325 330 335
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn

PU63739

```

          355          360          365
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
    370          375          380
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
    385          390          395          400
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
          405          410          415
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
          420          425          430
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
          435          440          445
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
    450
```

<210> 87

<211> 1362

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 87

```

gagggtgcagc tggtcgaaaag cggcggcggc ctggtgcagc ccggaggcag cctcaggctg 60
tcttgcgctg cctccggtt caccagcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gcctggagtg ggtggccgag atcaggaaca aggccaaaca ccacgccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa ggggaggttc accatcagca gggacaacgc caagaacagc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgcccgg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggccaggg cacactagt 360
accgtgtcca gcgccagcac caagggcccc agcgtgttcc ccctggcccc cagcagcaag 420
agcaccagcg gcggcacagc cgccctgggc tgccttgtga aggactactt ccccgaccg 480
gtgaccgtgt cctggaacag cggagccctg accagcggcg tgcacacctt ccccgccgtg 540
ctgcagagca gcggcctgta cagcctgagc agcgtggtga ccgtgcccag cagcagcctg 600
ggcaccaga cctacatctg taacgtgaac cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 660
aaggltggagc ccaagagctg tgacaagacc cacacctgcc cccctgccc tgcccccgag 720
ctgctgggag gccccagcgt gtccctgttc ccccccaagc ctaaggacac cctgatgac 780
agcagaaccc ccgaggtgac ctgtgtggtg gtggatgtga gccacgagga cctgaggtg 840
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcacaatg ccaagacca gcccaggag 900
```

53/110

79

PU63739

gagcagtaca acagcaccta cggggtggtg tccgtgctga ccgtgctgca ccaggatlgg 960
ctgaacggca aggagtacaa gtgtaagggtg tccaacaagg cctlgcctgc cctatcgag 1020
aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc agagagcccc aggtgtacac cctgccccct 1080
agcagagatg agctgaccaa gaaccagggtg tccctgacct gcctggtgaa gggcttctac 1140
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc 1200
acccccctg tgctggacag cgatggcagc ttcttctgt acagcaagct gaccgtggac 1260
aagagcagat ggcagcaggg caacgtgttc agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac 1320
aatcactaca ccagaagag cctgagcctg tcccctggca ag 1362

<210> 88
<211> 454
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 88
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 Ser Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Arg Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
130 135 140
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr

42

55/110

73

PU63739

<210> 89

<211> 1362

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 89

```
gaggtgcagc tggtcgaaag cggcggcggc ctggtgcagc ccggaggcag cctcaggctg 60
tcttgcgctg cctccggctt caccagcagc gacgcctgga tggattgggl gaggcaggcc 120
cccggaagag gcttgagtg ggtggccgag atcaggaaca aggccaacaa ccacgccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa ggggaggttc accatcagca gggacaacgc caagaacagc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgaggggc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccccg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggccaggg cacactagt 360
accgtgtcca ggcgcagcac caagggcccc agcgtgttcc cctggcccc cagcagcaag 420
agcaccagcg ggcgcacagc cgcctgggc tgcctgggtg aggactactt ccccgaaacc 480
gtgaccgtgt cctggaacag cggagccctg accagcggcg tgcacacctt ccccgccgtg 540
ctgcagagca ggcgcctgta cagcctgagc agcgtgggtg ccgtgcccag cagcagcctg 600
ggcaccacga cctacatctg taacgtgaac cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 660
aaggtggagc ccaagagctg tgacaagacc cacacctgcc cccctgccc tgcccccgag 720
ctgctgggag gccccagcgt gttcctgttc ccccccaagc ctaaggacac cctgatgalc 780
agcagaaccc ccgaggtgac ctgtgtggtg gtggatgtga gccacgagga ccctgagggt 840
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag glgcacaatg ccaagaccaa gcccgaggag 900
gagcagtaca acagcaccta ccgggtgggt tccgtgctga ccgtgctgca ccaggattgg 960
ctgaacggca aggagtacaa gtgtaagggt tccaacaagg ccctgcctgc cctatcgag 1020
aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc agagagcccc aggtgtacac cctgccccct 1080
agcagagatg agctgaccaa gaaccagglt tccctgacct gcctggtgaa gggcttctac 1140
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc 1200
acccccctg tgcctggacg cgatggcagc ttcttctgt acagcaagct gaccgtggac 1260
aagagcagat ggcagcaggg caacgtgttc agctgctccg tgatgcacga ggccttgcac 1320
aatcactaca ccagaagag cctgagcctg tcccctggca ag 1362
```

<210> 90

<211> 454

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

PU63739

<223> Heavy chain

<400> 90

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	Ser	Ser	Asp	Ala				
			20						25					30					
Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val				
		35					40						45						
Ala	Glu	Ile	Arg	Asn	Lys	Ala	Asn	Asn	His	Ala	Arg	His	Tyr	Ala	Glu				
	50					55						60							
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser				
65					70					75					80				
Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr				
				85						90					95				
Tyr	Cys	Thr	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Cys	Asp				
			100						105					110					
Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys				
		115					120						125						
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly				
		130					135					140							
Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro				
145					150					155				160					
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr				
				165						170				175					
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val				
			180						185					190					
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn				
		195						200						205					
Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro				
	210						215						220						
Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu				
225					230					235				240					
Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp				
			245							250				255					
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp				
		260							265					270					
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly				
		275					280							285					

57/110

26

PU63739

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
290 295 300
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305 310 315 320
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
325 330 335
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
355 360 365
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 91

<211> 1362

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 91

gaggtgcagc tggtcgaaaq cggcggcggc ctggtgcagc ccggaggcag cctcaggctg 60
tcttgcgctg cctccggctt caccagcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggaagag gcttgagtg ggtggccgag atcaggaaca agccaacaa ccacgccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa ggggaggttc accatcagca gggacgacgc caagaacagc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcacccgg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggccaggg cacactagtg 360

58/110

PU63739

accgtgtcca gcgccagcac caagggcccc agcgtgttcc cccctggcccc cagcagcaag 420
agcaccagcg gcggcacagc cggccctgggc tgcctggtga aggactactt ccccgaaaccg 480
gtgaccgtgt cctggaacag cggagccctg accagcggcg tgcacacctt ccccgccgtg 540
ctgcagagca gcggcctgta cagcctgagc agcgtggtga ccggtgcccag cagcagcctg 600
ggcaccacaga cctacatctg taacgtgaac cacaagcccc gcaacaccaa ggtggacaag 660
aaggtggagc ccaagagctg tgacaagacc cacacctgcc cccctgccc tgcccccgag 720
ctgctgggag gccccagcgt gttcctgttc ccccccaagc ctaaggacac cctgatgate 780
agcagaacct ccgaggtgac ctgtgtggtg gtggatgtga gccacgagga cctgaggtg 840
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcacaatg ccaagaccaa gcccagggag 900
gagcagtaca acagcaccta ccgggtggtg tccgtgctga ccggtgctga ccaggattgg 960
ctgaacggca aggagtacaa gtgtaagggtg tccaacaagg cctgcctgc cctatcgag 1020
aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc agagagcccc aggtgtacac cctgccccct 1080
agcagagatg agctgaccaa gaaccaggtg tcctgacct gcctggtgaa gggcttctac 1140
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc 1200
acccccctg tgctggacag cgatggcagc ttcttctgt acagcaagct gaccgtggac 1260
aagagcagat ggcagcaggg caacgtgttc agctgtctccg tgatgcacga ggccctgcac 1320
aatcactaca ccagaaagag cctgagcctg tccctggca ag 1362

<210> 92

<211> 454

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 92

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 Ser Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

59/110

27

PU63739

Tyr	Cys	Thr	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Cys	Asp
100				105				110							
Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
115				120				125							
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly
130				135				140							
Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
145				150				155				160			
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr
165				170				175							
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val
180				185				190							
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn
195				200				205							
Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro
210				215				220							
Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu
225				230				235				240			
Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp
245				250				255							
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp
260				265				270							
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly
275				280				285							
Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn
290				295				300							
Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp
305				310				315				320			
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro
325				330				335							
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu
340				345				350							
Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn
355				360				365							
Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile
370				375				380							
Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr
385				390				395				400			
Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys

60/110

PU63739

	405		410		415										
Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys
	420							425					430		
Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu
	435							440					445		
Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys										
	450														

<210> 93

<211> 1362

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 93

gagggtgcagc tggtcgaaaag cggcggcggc ctggtgcagc ccggaggcag cctcaggctg 60
tcttgcgctg cctccggctt caccagcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gcttggagtg ggtggccgag atcaggaaca aggccaaaca ccacgccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa ggggaggttc accatcagca gggacaacgc caagaacagc 240
gtctacctgc agatgaacag cctgagggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccocg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggccaggg cacactagt 360
accgtgtcca gcgccagcac caagggcccc agcgtgttcc ccctggcccc cagcagcaag 420
agcaccagcg gcggcacagc cgcctgggc tgccctggtga aggactactt ccccgaaacc 480
gtgaccgtgt cctggaacag cggagccctg accagggcg tgcaacacct ccccgccgtg 540
ctgcagagca gcggcctgta cagcctgagc agcgtggtga ccgtgcccag cagcagcctg 600
ggcaccacga cctacatctg taacgtgaac cacaagcccc gcaacaccaa ggtggacaag 660
aaggtggagc ccaagagctg tgacaagacc cacacctgcc cccctgcc tgcccccgag 720
ctgctgggag gccccagcgt gtccctgttc cccccaagc ctaaggacac cctgatgatc 780
agcagaaccc ccgaggtgac ctgtgtggtg gtggatgtga gccacgagga ccctgaggtg 840
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcacaatg ccaagaccaa gccaggggag 900
gagcagtaaa acagcaccta ccgggtggtg tccgtgctga ccgtgctgca ccaggattgg 960
ctgaacggca aggagtacaa gtgtaagggtg tocaacaagg ccctgcctgc ccctatcgag 1020
aaaaccatca gcaaggccaa ggccagccc agagagcccc aggtgtacac cctgccccct 1080
agcagagatg agctgaccaa gaaccagggtg tccctgacct gcctggtgaa gggcttctac 1140
cccagcgaca tcgcgtgga gtgggagagc aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc 1200
acccccctg tgctggacag cgatggcagc ttcttctgt acagcaagct gaccgtggac 1260

61/110

78

PU63739

aagagcagat ggcagcaggg caacgtgttc agctgctccg tgatgcacga ggccttgcac 1320
aatcactaca cccagaagag cctgagcctg tccccggca ag 1362

<210> 94

<211> 454

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 94

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	Ser	Ser	Asp	Ala
			20					25					30		
Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
	35					40						45			
Ala	Glu	Ile	Arg	Asn	Lys	Ala	Asn	Asn	His	Ala	Arg	His	Tyr	Ala	Glu
	50				55					60					
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser
65				70					75					80	
Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
			85					90					95		
Tyr	Cys	Thr	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Cys	Asp
		100						105					110		
Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
	115					120						125			
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly
	130					135					140				
Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
145				150					155					160	
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr
			165					170					175		
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val
		180						185				190			
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn
	195						200					205			
Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro

62/110

PU63739

210	215	220
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu		
225	230	235
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp		240
	245	250
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		255
	260	265
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		270
	275	280
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn		285
	290	295
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp		300
305	310	315
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro		320
	325	330
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu		335
	340	345
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn		350
	355	360
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile		365
	370	375
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr		380
385	390	395
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys		400
	405	410
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys		415
	420	425
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu		430
	435	440
Ser Leu Ser Pro Gly Lys		445
		450

<210> 95

<211> 1362

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

79

PU63739

<223> Heavy chain

<400> 95

gaggtgcagc tggtcgaaag cggcggcggc ctggtgcagc ccggaggcag cctcaggctg 60
tcltgcgctg cctccggctt caccagcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gcctggagtg ggtggccgag atcaggaaca aggccaacaa ccacgccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa ggggaggttc accatcagca gggacgacgc caagaacagc 240
gtctacctgc agatgaacag cctgagggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccccg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggccaggg cacactagtg 360
accgtgtcca ggcgcagcac caagggcccc agcgtgttcc ccttgcccc cagcagcaag 420
agcaccagcg gcggcacagc cgccctgggc tgccctggta aggactactt ccccgaaaccg 480
gtgaccgtgt cctggaacag cggagccctg accagcggcg tgcacacctt ccccgccgtg 540
ctgcagagca gcgccctgta cagcctgagc agcgtggtga ccgtgcccag cagcagcctg 600
ggcaccacaga cctacatctg taacgtgaac cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 660
aaggtggagc ccaagagctg tgacaagacc cacacctgcc cccctgccc tgcccccgag 720
ctgctgggag gcccagcgt gttcctgttc cccccaaag ctaaggacac cctgatgac 780
agcagaaccc ccgaggtgac ctgtgtggtg gtggatgtga gccacgagga cctgaggtg 840
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcacaatg ccaagaccaa gcccagggag 900
gagcagtaca acagcaccta ccgggtggag tccgtgctga ccgtgctgca ccaggattgg 960
ctgaacggca aggagtacaa gtgtaagggt tccaacaagg cctlgcctgc cctatcgag 1020
aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc agagagcccc aggtgtacac cctgccccct 1080
agcagagatg agctgaccaa gaaccaggtg tccctgacct gccctggtaga gggcttctac 1140
cccagcgaca tcgccgtgga glgggagagc aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc 1200
acccccctg tgclygacag cgatggcagc ttcttctgt acagcaagct gaccgtggac 1260
aagagcagat ggcagcaggg caacgtgttc agclqctccg tgalgcacga ggcctgcac 1320
aatcactaca ccagaagag cctgagcctg tccccggca ag 1362

<210> 96

<211> 454

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 96

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 Ser Ser Asp Ala

PU63739

	20		25		30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val					
35			40		45
Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu					
50			55		60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Lys Asn Ser					
65			70		75
80					
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr					
	85		90		95
Tyr Cys Thr Arg Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp					
100			105		110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys					
115			120		125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly					
130			135		140
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro					
145			150		155
160					
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr					
	165		170		175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val					
180			185		190
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn					
195			200		205
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro					
210			215		220
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu					
225			230		235
240					
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp					
	245		250		255
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp					
260			265		270
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly					
275			280		285
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn					
290			295		300
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp					
305			310		315
320					
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro					
	325		330		335

80

PU63739

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
355 360 365
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 97
<211> 642
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

<400> 97
gacatccaga tgacccagag ccccaqcaqc ctgagcgccta gcgtgggcga caggggtgacc 60
atcacctgca ggacctccga gaacatctac agctacctgg cctggatatca gcagaaaccc 120
ggcaaggccc ccaagctcct gatctacaac gccaaagacac tggccgaggg cgtgcccagc 180
aggttctcag gcagcggctc tgggaccgac ttacacctga ccacagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcac cactacggaa ccccttgac cttcggccag 300
ggcaccaagc tggagattaa gcgtacggtg gcgcgcccca gcgtgttcat ctccccccc 360
agcgatgagc agctgaagag cggcacccgc agcgtggtgt gtctgctgaa caacttctac 420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaatgcc tgcagagcgg caacagccag 480
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

PU63739

<210> 98

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 98

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr 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 Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

81

PU63739

<210> 99
<211> 642
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

<400> 99
gacatccaga tgacccagag cccagcagc ctgagcgcta gcgtggggcga caggggtgacc 60
atcacctgca ggacctccga gaacatctac agctacctgg cctgglatca gcagaaaccc 120
ggcaaggccc ccaagctcct ggtgtacaac gccaaagacac tggccgaggg cgtgcccagc 180
aggtttctcag gcagcggctc tgggaccgac ttccacctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcac cactacggaa ccccttggac ctccggccag 300
ggcaccaagc tggagattaa gcgtacgggtg gccgccccca gcgtgttcal ctcccccccc 360
agcgatgagc agctgaagag cggcacccgc agcgtgggtg gtctgctgaa caacttctac 420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaatgccc tgcagagcgg caacagccag 480
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 100
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

<400> 100
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Val
35 40 45
Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

PU63739

65		70		75		80									
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	His	His	Tyr	Gly	Thr	Pro	Trp
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
			100					105					110		
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
		115						120					125		
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
	130							135					140		
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
145					150					155				160	
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
				165					170					175	
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
		180							185					190	
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser
		195						200						205	
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys										
			210												

<210> 101

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 101

gacatccaga tgaccagag cccagcagc ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca ggacctccga gaacatctac agctacctgg cctggatatca gcagaaaccc 120
ggcaaggccc ccagctcct ggtgtacaac gccaaagacac tggccgaggg cgtgccccagc 180
aggttctcag gcagcggctc tgggaccgac ttccacctga ccacagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcac cactacggaa cccctggac cttcggccag 300
ggcaccaagc tggagattaa gcgtacggtg gccgcaccca gcgtgttcat cttccccccc 360
agcgatgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gtctgctgaa caattctac 420
ccccgggagg ccaagggtgca gtaggaagggtg gacaatgcc tgcagagcgg caacagccag 480
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

69/110

82

PU63739

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 102
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

<400> 102
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45
Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys

PU63739

210

<210> 103

<211> 1335

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 103

```
gaggtgcagc tcctggagag cggcgggggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg 60
agctgcgcgc caagcggcct cacccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaaag gactggagtg ggtcagcgag atcaggcaca aggccaaacga ccacgccatc 180
ttctacgacg agagcgtgaa gggcagggttc accatctcca gggacaacag caagaacacc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaagacaccg ctgtgtacta ctgcgccaaag 300
ccctttgcct actggggcca gggaacacta gtgaccgtgt ccagcgccag caccaagggc 360
cccagcgtgt tccccctggc cccagcagc aagagcacca gcggcggcac agccgccctg 420
ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgaa ccggtgaccg tgtcctggaa cagcggagcc 480
ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgac gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg 540
agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcagc ctgggacccc agacctacat ctgtaacgtg 600
aaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaggtgg agcccaagag ctgtgacaag 660
acccacacct gccccccctg ccttgcctcc gagctgctgg gaggcoccag cgtgttctctg 720
ttccccccca agcctaagga caccctgatg atcagcagaa ccccagaggt gacctgtgtg 780
gtggtggatg tgagccacga ggaccctgag gtgaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840
gaggtgcaca atgccaagac caagcccagg gagggagcgt acaacagcac ctaccgggtg 900
gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggat tggctgaacg gcaaggagta caagtgttag 960
gtgtccaaca aggccttgcc tgccccatc gagaaaacca tcagcaaggc caagggccag 1020
cccagagagc cccaggtgta caccctgccc cctagcagag atgagctgac caagaaccag 1080
gtgtccctga cctgcctggt gaagggttc taccacagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaacggcc agcccgagaa caactacaag accaccccc ctgtgctgga cagcgatggc 1200
agcttcttcc tgtacagcaa gctgaccgtg gacaagagca gatggcagca gggcaacgtg 1260
ttcagctgct ccgtgatgca cgaggccctg cacaatcact acaccagaa gagcctgagc 1320
ctgtccccctg gcaag                                     1335
```

<210> 104

<211> 445

<212> PRT

71/110

83

PU63739

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 104

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	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	Asp	Ala		
			20					25					30				
Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val		
		35				40						45					
Ser	Glu	Ile	Arg	His	Lys	Ala	Asn	Asp	His	Ala	Ile	Phe	Tyr	Asp	Glu		
	50					55					60						
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr		
65				70					75					80			
Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr		
			85					90					95				
Tyr	Cys	Ala	Lys	Pro	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr		
		100					105						110				
Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro		
		115				120						125					
Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val		
	130					135					140						
Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala		
145				150					155				160				
Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly		
			165					170				175					
Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly		
		180					185					190					
Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys		
	195					200						205					
Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys		
	210					215					220						
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu		
225				230					235				240				
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu		
			245					250				255					
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys		

72/110

PU63739

260	265	270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys		
275	280	285
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu		
290	295	300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		
305	310	315
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys		
325	330	335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser		
340	345	350
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys		
355	360	365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln		
370	375	380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly		
385	390	395
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		
405	410	415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn		
420	425	430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
435	440	445

<210> 105

<211> 1335

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 105

gaggtgcagc tcttgagagc cggcgggggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg 60
agctgcgccg caagcggcctt caccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gactggagtg ggtcagcgag atcaggcaca aggccaacga ccacgccatc 180
ttctacgacg agagcgtgaa gggcaggttc accatctcca gggacaacag caagaacacc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaagacaccg ctgtgtacta ctgcaccagc 300

73/110

84

PU63739

ccctttgcct actggggcca gggaaacta gtgaccgtgt ccagcgccag caccaagggc 360
cccagcgtgt tccccctggc cccagcagc aagagcacca gcggcgccac agccgccctg 420
ggctgcctgg tgaaggacta ctccccgaa ccggtgaccg tgtcctggaa cagcggagcc 480
ctgaccagcg gcgtgcacac ctccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg 540
agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcagc clgggcaccc agacctacat ctgtaacgtg 600
aaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaggtgg agcccaagag ctgtgacaag 660
accacacact gccccccctg cctgcccc gagctgclgg gaggccccag cgtgtlccctg 720
ttcccccca agcctaagga caccctgatg atcagcagaa cccccgaggt gacctgtgtg 780
gtggtggatg tgagccacga ggacctgag gtgaagtcca actggtacgt ggacggcgtg 840
gaggtgcaca atgccaagac caagcccagg gaggagcagl acaacagcac ctaccgggtg 900
gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccagat tggctgaacg gcaaggagta caagtgtaa 960
gtgtccaaca aggccctgcc tgccccatc gagaaaacca tcagcaaggc caagggccag 1020
cccagagagc cccaggtgta caccctgcc cctagcagag atgagctgac caagaaccag 1080
gtgtccctga cctgcctggg gaagggcttc taccacagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaacggcc agcccgagaa caactacaag accaccccc ctgtgctgga cagcgatggc 1200
agcttcttcc tgtacagcaa gctgaccgtg gacaagagca gatggcagca gggcaacgtg 1260
ttcagctgct ccgtgatgca cgaggccctg cacaatcact acaccagaa gagcctgagc 1320
ctgtcccctg gcaag 1335

<210> 106
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 106
Glu Val Gln Leu Leu 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 Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr

PU63739

	85	90	95
Tyr Cys Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr			
100	105	110	
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro			
115	120	125	
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val			
130	135	140	
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala			
145	150	155	160
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly			
165	170	175	
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly			
180	185	190	
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys			
195	200	205	
Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys			
210	215	220	
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu			
225	230	235	240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu			
245	250	255	
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys			
260	265	270	
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys			
275	280	285	
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu			
290	295	300	
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys			
305	310	315	320
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys			
325	330	335	
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser			
340	345	350	
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys			
355	360	365	
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln			
370	375	380	
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly			
385	390	395	400

85

PU63739

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 107

<211> 1335

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 107

gaggtgcagc tcctggagag cggcgggggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg 60
agctgcgccg caagecgctt caccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gactggagtg ggtcagcgag atcaggcaca aggccaacga ccacgccatc 180
ttctacgacg agagcgtgaa gggcaggttc accatctcca gggacgacaq caaqaacacc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaagacaccg ctgtgtacta ctgcaccagc 300
ccctttgcct actggggcca gggaacacta gtgaccgtgt ccagcgccag caccaagggc 360
cccagcgtgt tccccctggc cccagcagc aagagcacca gcggcggcac agccgccctg 420
ggctgcctgg tgaaggacta ctccccgaa ccggtgaccg tgtcctggaa cagcggagcc 480
ctgaccagcg gcgtgcacac ctccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg 540
agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcagc ctgggcaccc agacctacat ctgtaacgtg 600
aaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaggtgg agcccaaqag ctgtgacaag 660
accacacctt gccccccctg ccttgcccc gagctgctgg gaggccccag cgtgttcctg 720
ttcccccca agcctaagga caccctgatg atcagcagaa cccccgaggt gacctgtgtg 780
gtggtggatg tgagccacga ggaccctgag gtgaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840
gaggtgcaca atgccaagac caagcccagg gaggagcagt acaacagcac ctaccgggtg 900
gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggat tggctgaacg gcaaggagta caagtgtaa 960
gtgtccaaca aggcctgcc tgccccatc gagaaaacca tcagcaaggc caagggccag 1020
cccagagagc ccaggtgta caccctgcc cctagcagag atgagctgac caagaaccag 1080
gtgtccclga cctgcctggg gaagggcttc taccacagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaacggcc agcccgagaa caactacaag accaccccc ctgtgctgga cagcgatggc 1200
agcttcttcc tgtacagcaa gctgaccgtg gacaagagca gatggcagca gggcaacgtg 1260
ttcagctgct ccgtgatgca cgaggccctg cacaatcact acaccagaa gagcclgagc 1320

PU63739

ctgtcccttg gcaag

1335

<210> 108

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 108

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	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	Asp	Ala
			20					25					30		
Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35				40						45			
Ser	Glu	Ile	Arg	His	Lys	Ala	Asn	Asp	His	Ala	Ile	Phe	Tyr	Asp	Glu
	50				55				60						
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr
65				70				75				80			
Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
			85					90				95			
Tyr	Cys	Thr	Ser	Pro	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr
			100					105				110			
Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro
			115					120				125			
Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val
		130				135						140			
Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala
145				150				155				160			
Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly
			165					170				175			
Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly
			180					185				190			
Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys
		195				200						205			
Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
		210				215						220			

77/110

PU63739

Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
225					230					235					240
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
			245						250						255
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
			260						265						270
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
			275						280						285
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
			290						295						300
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
305									310						320
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
			325						330						335
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
			340						345						350
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys
			355						360						365
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
			370						375						380
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
385									390						400
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
			405						410						415
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
			420						425						430
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
			435						440						445

<210> 109

<211> 1335

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 109

PU63739

gaggtgcagc ttctggagag cggcgggggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg 60
agctgcgccg caagcggcctt caccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gactggagtg ggtcggccgag atcaggcaca aggccaaacga ccacgccatc 180
ttctacgacg agagcgtgaa gggcagggttc accatctcca gggacaacag caagaacacc 240
gtgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaagacaccg ctgtgtacta ctgcaccagc 300
ccctttgcct actggggcca gggaaacta gtgaccgtgt ccagcggcag caccaagggc 360
cccagcgtgt tccccctggc cccagcagc aagagcacca gggcggcac agccgccctg 420
ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgaa ccggcgaccg tgtcctggaa cagcggagcc 480
ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg 540
agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcagc ctgggcaccc agacctacat ctgtaacgtg 600
aaccacaagc ccagcaaacac caagggtggac aagaagggtg agcccaagag ctgtgacaag 660
accacacact gccccccctg ccctgcccc gagctgctgg gagggcccag cgtgttcctg 720
ttcccccca agcctaagga caccctgatg atcagcagaa ccccagagg gacctgtgtg 780
gtgggtgatg tgagccacga ggaccctgag gtgaagtcca actggtacgt ggacggcgtg 840
gaggtgcaca atgccaagac caagcccagg gaggagcagt acaacagcac ctaccgggtg 900
gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggat tggctgaacg gcaaggagta caagtgtlaag 960
gtgtccaaca aggccttgc tgccccctatc gagaaaaacca tcagcaaggc caagggccag 1020
cccagagagc cccaggtgta caccctgccc cctagcagag atgagctgac caagaaccag 1080
gtgtccctga cctgcctggt gaagggttc taccacagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaacggcc agcccgagaa caactacaag accaccccc ctgtgctgga cagcgatggc 1200
agcttcttcc tgtacagcaa gctgaccgtg gacaagagca gatggcagca gggcaacgtg 1260
ttcagctgct ccgtgatgca cgagggcctg cacaatcact acaccagaa gagcctgagc 1320
ctgtccccg gcaag 1335

<210> 110

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 110

Glu Val Gln Leu Leu 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 Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

79/110

87

PU63739

Ala	Glu	Ile	Arg	His	Lys	Ala	Asn	Asp	His	Ala	Ile	Phe	Tyr	Asp	Glu
50						55					60				
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr
65					70					75				80	
Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
				85					90					95	
Tyr	Cys	Thr	Ser	Pro	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr
			100					105					110		
Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro
		115					120					125			
Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val
		130					135				140				
Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala
145					150					155				160	
Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly
			165						170					175	
Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly
		180						185					190		
Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys
		195					200						205		
Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
	210						215				220				
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
225					230					235				240	
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
			245						250				255		
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
		260						265					270		
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
		275					280					285			
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
	290						295					300			
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
305					310					315				320	
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
			325						330				335		
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
		340						345				350			
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys

80/110

PU63739

```

          355              360              365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
    370              375              380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
    385              390              395              400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
          405              410              415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
          420              425              430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
          435              440              445
```

<210> 111

<211> 1335

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 111

```

gagggtgcagc tccctggagag cggcgggggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg 60
agctgcgcgc caagcggcctt cacccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggaacag gactggagtg ggctgcgcgag atcaggcaca aggccaaaga ccacgccatc 180
ttctacgacg agagcgtgaa gggcagggttc accatctcca gggacgacag caagaacacc 240
gtgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaagacaccg ctgtgtacta ctgcaccagc 300
ccctttgcct actggggcca ggggaacacta gtgaccgtgt ccagcgccag caccaagggc 360
cccagcgtgt tccccctggc cccagcagc aagagcacca gggcgggcac agccgccttg 420
ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgaa ccggtgaccg tgtcctggaa cagcggagcc 480
ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg 540
agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcagc ctgggcaccc agacctacat ctgtaacgtg 600
aaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaggtgg agcccaagag ctgtgacaag 660
acccacacct gccccccctg ccttgcccc gagctgctgg gaggccccag cgtgttctctg 720
ttccccccca agcctaagga caccctgatg atcagcagaa ccccgagggt gacctgtgtg 780
gtggtggatg tgagccacga ggaccctgag gtgaagttca actggtagct ggacggcgtg 840
gaggtgcaca atgccaaagc caagcccagg gaggagcagt acaacagcac ctaccgggtg 900
gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggat tggctgaacg gcaaggagta caagtgtgag 960
gtgtccaaca aggccttgcc tgcacctatc gagaaaacca tcagcaaggc caagggccag 1020
```

81/110

88

PU63739

cccagagagc cccaggtgta caccctgccc cctagcagag atgagctgac caagaaccag 1080
gtgtccoctga cctgcctgggt gaagggcttc taccacagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaacggcc agcccgagaa caactacaag accaccccc ctgtgctgga cagcgatggc 1200
agctttcttcc tgtacagcaa gctgaccgtg gacaagagca gatggcaqca gggcaacgtg 1260
ttcagctgct ccgtgatgca cgaggccctg cacaatcact acaccagaa gagcctgagc 1320
ctgtccoctg gcaag 1335

<210> 112
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 112
Glu Val Gln Leu Leu 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 Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly

PU63739

	180		185		190										
Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys
	195						200					205			
Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
	210						215					220			
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
225					230					235					240
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
				245						250				255	
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
			260							265				270	
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
	275									280				285	
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
	290						295						300		
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
305					310					315					320
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
				325						330				335	
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
			340							345				350	
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys
	355						360						365		
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
	370						375						380		
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
385					390						395				400
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
				405						410				415	
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
			420							425				430	
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
		435						440					445		

<210> 113

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

83/110

89

<220>

<223> Light chain

<400> 113

gacatccaga tgacccagag cccctcaagc ctgtctgccg gcgtgggcga cagggtgacc 60
attacctgca aggccagcca gagcgtcggc accaccatcg tgtggtacca gcagaaaccc 120
ggcaaggccc ccaagctcct gatctacagc gccagcaaca ggcacaccgg cgtgcctagc 180
aggttttagcg gaagcggcag cggcacccgac ttcaccctga caatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaccagct atcccttcac cttcggccag 300
ggcaccaagc tggagatcaa gcgtacggcg gccgccccca gcgtgttcal cttccccccc 360
agcgatgagc agctgaagag cggcacccgc agcgtggtgt gtctgtgaa caacttctac 420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggcg gacaatgcc tgcagagcgg caacagccag 480
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gctgagcag caccctgacc 540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 114

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 114

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Thr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

PU63739

```

      100      105      110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
      115      120      125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
      130      135      140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
      145      150      155      160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
      165      170      175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
      180      185      190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
      195      200      205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
      210
```

<210> 115

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 115

```

gaggtgcagc tggtegaaag cggcggcggc ctggtgcagc cgggaggcag cctcaggctg 60
tcttgcgctg cctcgggctt caccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gcctggagtg ggtggccgag atcaggaaca aggccaacaa ccacgccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa ggggagggtc accatcagca gggacaacgc caagaacagc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgccggg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggccaggg cacactagtg 360
accgtgtcca gc                                     372
```

<210> 116

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

PU63739

<220>

<223> Heavy chain

<400> 116

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 Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Arg Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 117

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 117

gaggtgcagc tggtcgaaag cggcggcggc ctggtgcagc ccggaggcag cctcaggctg 60
tcttgcgctg cctccggctt caccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
ccgggcaaag gcctggagtg ggtggccgag atcaggaaca aggccaaaca ccacgccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa ggggaggttc accatcagca gggacaacgc caagaacagc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccccg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggccaggg cacactagtg 360
accgtgtcca gc 372

PU63739

<210> 118

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 118

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 Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Arg Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 119

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 119

gaggtgcagc tggtcgaaaag cggcggcggc ctggtgcagc ccggaggcag cctcaggctg 60
tcttgccgtg cctccggctt caccagcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gcctggagtg ggtggccgag atcaggaaca aggccaacaa ccacgccagg 180

PU63739

cactacgccg agagcgtgaa ggggaggttc accatcagca gggacaacgc caagaacagc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgcccgg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggccaggg cacactagtg 360
accgtgtcca gc 372

<210> 120
<211> 124
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 120
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 Ser Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Arg Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 121
<211> 372
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

PU63739

<400> 121

gaggtgcagc tggtcgaaag cggcggcggc ctggtgcagc cgggaggcag cctcaggctg 60
tcttgcgctg cctccggctt caccagcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggaacaa gcctggagtg ggtggccgag atcaggaaca aggcccaaca ccacgccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa ggggagggtt accatcagca gggacaacgc caagaacagc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcacccgg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt gggggccaggg cacactagtg 360
accgtgtcca gc 372

<210> 122

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 122

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 Ser Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Arg Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 123

<211> 372

PU63739

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 123

gaggtgcagc tggtcgaaag cggcggcggc ctggtgcagc ccggaggcag cctcaggctg 60
lcttgcgctg cctccggctt caccagcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggaagag gcctggagtg ggtggccyag alcaggaaca aggccaaaca ccacgccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa ggggaggttc accatcagca gggacgacgc caagaacagc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccggg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggccaggg cacactagtg 360
accgtgtcca gc 372

<210> 124

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 124

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 Ser Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Arg Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

PU63739

115

120

<210> 125

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 125

gaggtgcagc tggtcgaaag cggcggcggc ctggtgcagc ccggaggcag cctcaggctg 60
tcttgcgctg cctccggctt caccagcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gcctggagtg ggtggccgag atcaggaaca aggccaacaa ccacgccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa ggggagggtc accatcagca gggacaacgc caagaacagc 240
gtctacctgc agatgaacag cctgagggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcacccgg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggccaggg cactactagt 360
accgtgtcca gc 372

<210> 126

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 126

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 Ser Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80

91/110

93

PU63739

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Arg Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 127
<211> 372
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 127
gaggtgcagc tggtcgaaag cggcgggcggc ctggtgcagc ccggaggcag cctcaggctg 60
tcttgcgctg cctccggctt caccagcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gcctggagtg ggtggccgag atcaggaaca aggccaacaa ccacgccagg 180
cactacgccg agagcgtgaa ggggagggtc accatcagca gggacgacgc caagaacagc 240
gtctacctgc agatgaacag cctgaggggc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccccg 300
acctactact acgggagcag ctacggctat tgcgacgtgt ggggccaggg cacactagtg 360
accgtgtcca gc 372

<210> 128
<211> 124
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<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 Ser Ser Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

PU63739

```

      35              40              45
Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Arg His Tyr Ala Glu
      50              55              60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Lys Asn Ser
      65              70              75              80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
              85              90              95
Tyr Cys Thr Arg Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Tyr Cys Asp
      100              105              110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115              120
```

<210> 129

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 129

```

gacatccaga tgacccagag cccacagcagc ctgagcgccta gcgtggggcga caggggtgacc 60
atcacctgca ggacccccga gaacatctac agctacctgg cctgggtatca gcagaaaccc 120
ggcaaggccc ccaagctcct gatctacaac gccaaagacac tggccgaggg cgtgcccagc 180
aggttctcag gcagcgggctc tgggaccgac ttcacctga ccacagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcac cactacggaa cccctggac ctteggccag 300
ggcaccaagc tggagattaa gcgtacg                                     327
```

<210> 130

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 130

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
```

93/110

94

PU63739

1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr 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 Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 131
<211> 327
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

<400> 131
gacatccaga tgaccagag cccagcagc ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca ggacctccga gaacatctac agctacctgg cctgggtalca gcagaaaccc 120
ggcaaggccc ccaagctcct ggtgtacaac gccaaagacac tggccgaggg cgtgcccagc 180
aggtttctcag gcagcggctc tgggaccgac ttcaccctga ccacagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcac cactacggaa cccctggac cttcggccag 300
ggcaccaagc tggagattaa gcgtacg 327

<210> 132
<211> 109
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

PU63739

<400> 132

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Val
35 40 45
Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 133

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 133

gacatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca ggacctccga gaacatctac agctacctgg cctgggtatca gcagaaaccc 120
ggcaaggccc ccagctcct ggtgtacaac gccaaqacac tggccgaggg cgtgccagc 180
aggttctcag gcagcggctc tgggaccgac ttcacctga ccacagcag cctgcagccc 240
gaggacttgc ccacctacta ctgccagcac cactacggaa cccctggac cttcggccag 300
ggcaccaagc tggagattaa gcgtacg 327

<210> 134

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

95/110

as

PU63739

<223> Light chain

<400> 134

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45
Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 135

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 135

gaggtgcagc tcttgagagc cggcgggggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg 60
agctgcgccg caagcggcctt caccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gactggagtg ggtcagcagc atcaggcaca agccaacga ccacgccatc 180
ttctacgacg agagcgtgaa gggcagggtc accatctcca gggacaacag caagaacacc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaagacaccg ctgtgtacta ctgcgccaag 300
ccctttgcct actggggcca gggaaacta gtgaccgtgt ccagc 345

<210> 136

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

PU63739

<220>

<223> Heavy chain

<400> 136

Glu Val Gln Leu Leu 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 Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Lys Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 137

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 137

gagggtgcagc tccctggagag cggcgggggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg 60
agctgcgccg caagcggcctt cacccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gactggagtg ggtcagcgag atcaggcaca aggccaacga ccacgccatc 180
ttctacgacg agagcgtgaa gggcaggttc accatctcca gggacaacag caagaacacc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaagacaccg ctgtgtacta ctgcaccagc 300
cccttgcct actggggcca gggaacacta gtgaccgtgt ccagc 345

PU63739

<210> 138
<211> 115
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 138
Glu Val Gln Leu Leu 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 Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 139
<211> 345
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 139
gaggtgcagc tcctggagag cggcgggggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg 60
agctgcgccg caagcggtt caccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gactggagtg ggtcagcag atcaggcaca aggccaacga ccacgccatc 180

PU63739

tcttacgacg agagcgtgaa gggcagggttc accatctcca gggacgacag caagaacacc 240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaagacaccg ctgtgtacta ctgcaccagc 300
ccctttgcct actggggcca gggaacacta gtgaccgtgt ccagc 345

<210> 140

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 140

Glu Val Gln Leu Leu 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 Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 141

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

97

PU63739

<400> 141
gaggtgcagc tcctggagag cggcgggggc clggtgcagc ccggcggcag cctgagactg 60
agctgcgcgc caagcggctt caccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gactggagtg ggtcgccgag atcaggcaca aggccaacga ccacgccatc 180
ttctacgacg agagcgtgaa gggcaggttc accatctcca gggacaacag caagaacacc 240
gtgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaagacaccg ctgtgtacta ctgcaccagc 300
ccclttgcct actggggcca gggaacacta gtgaccgtgl ccagc 345

<210> 142
<211> 115
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 142
Glu Val Gln Leu Leu 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 Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 143
<211> 345
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

PU63739

<220>

<223> Heavy chain

<400> 143

gaggtgcagc tcctggagag cggcgggggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg 60
agctgcgccg caagcggcct cacccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
cccggcaaag gactggagtg ggtcgccgag atcaggcaca aggccaacga ccacgccatc 180
ttctacgacg agagcgtgaa gggcagggttc accatctcca gggacgacag caagaacacc 240
gtgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaagacaccg ctgtgtacta ctgcaccagc 300
ccctttgcct actggggcca ggaacacta gtgaccgtgt ccagc 345

<210> 144

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 144

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	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	Asp	Ala
			20						25					30	
Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40						45		
Ala	Glu	Ile	Arg	His	Lys	Ala	Asn	Asp	His	Ala	Ile	Phe	Tyr	Asp	Glu
	50					55					60				
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr
65				70					75					80	
Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
			85						90					95	
Tyr	Cys	Thr	Ser	Pro	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr
			100						105					110	
Val	Ser	Ser													
															115

PU63739

<210> 145
<211> 327
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

<400> 145
gacatccaga tgacccagag cccctcaagc ctgtctgccg gcgtggggcga caggggtgacc 60
attacctgca aggccagcca gagcgtcggc accaccatcg tgtggtacca gcagaaaccc 120
ggcaaggccc ccaagctcct gatctacagc gccagcaaca ggcacaccgg cgtgcctagc 180
aggtttagcg gaagcggcag cggcaccgac ttcaccctga caalcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaccagct atcccttcac cttcggccag 300
ggcaccgaagc tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 146
<211> 109
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

<400> 146
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Thr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

PU63739

<210> 147

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 147

```
gaagtgaagc ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60
tccctgtactg cctccggatt cacttttagt gacgcctgga tggactgggt ccgccagtct 120
ccagagaagg gacttgagtg ggttgctgaa attagacaca aagctaata tcatgcaata 180
ttttatgatg agtctgtgaa agggagggtc accatctcaa gagatgatc caaaaatatt 240
gtctatctgc aaatgaacag ttttaagacct gaggacaccg gcatttatta ttgtaccagt 300
ccttttgcct attggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345
```

<210> 148

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 148

```
gacattgtga tgaccagtc tcaaaaattc atgtccgtaa cagtgggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtc gagtgtggga actactatag tctggtatca acagaaacca 120
ggacaatctc ctaaaattact gatttactct gcatacaatc ggcacactgg ggtccctgat 180
cgcttcacag qcagtggatc tgggacagat ttcattctca ccattaacaa tgtgcagtct 240
gaggacctgg cagattatct ctgtcagcaa tatacctcct atccattcac gttcggctcg 300
gggacaaaagc tggagataaa acgggct 327
```

<210> 149

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

103/110

99

PU63739

<220>

<223> Heavy chain

<400> 149

gaagtgaagc ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60
tcttgtgctg cctctggatt cacttctagt gacgcctgga tggactgggt ccgccagtct 120
ccagaaaagg ggcttgagtg ggttgctgaa attagaaaca aagctaataa tcatgcaaga 180
cactatgctg agtctgtgaa agggagggtc accatctcaa gagatgattc caaaagtagt 240
gtctacctgc aaatgaacag cttaagagct gaagactctg gcatttatta ctgtaccagg 300
acgtattatt acggtagcag ctacggatac tgcgatgtct ggggcacagg gaccacggtc 360
accgtctcct ca 372

<210> 150

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 150

gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60
atcacatgtc gaacaaqta gaatatctac agttatttag catgggatca gcagaaacag 120
ggaaaatctc ctacgtcctt ggtctataat gcaaaaacct tagcagaagg tgtgccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag ttttctctga agatcaacag cctgcagcct 240
gaagatcttg ggagtlattc ctgtcaacat cattatggta ctccgtggac gttcgggtgga 300
ggcaccaagc tggaaatcaa acgggct 327

<210> 151

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 151

gaagtgaagc ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60
tcttgtgctg cctctggaat cacttttagt gatgcctgga tggactgggt ccgccagtct 120

PU63739

ccagagaagg ggcttgagtg ggttgctgac attagaaaca cagctaataa tcatgcaaca 180
ttctatgctg agtctgtgaa agggaggttc accatctcaa gagatgattc caaaagtact 240
gtctacctgc aaatgaacac cttaagacct gaagacactg gcatttatta ctgtaccagc 300
ccttttgctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 152

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Light chain

<400> 152

gacattgtga tgaccagtc tcaaaaattc atgtccacaa cagtaggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggcagtc aaatgtgggt actgctgtag tctggtttca acagaaacca 120
ggacaatctc ctaaactact gatttactca gcatecaatc ggtacaccag agtcctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgcagtct 240
gaagacctgg cagattatct ctgtcagcaa tatgtcaact atccattcac gttcggctcg 300
gggacaaaat tggaaataaa acgggct 327

<210> 153

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 153

gaagtgaagt ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60
tctgtgctg cctccggatt tatttttagt gacgctgga tggactgggt ccgccagtct 120
ccagagaagg gacttgagtg ggttgctgaa attagacaca aagctaataa ttatgcaata 180
ttttatgatg agtctgtgaa agggaggttc accatctcaa gagatgattc caaaagtatt 240
gtctatctgc aaatgaacaa cttaagacct gaagacaccg gcatttatta ttgtaccagt 300
ccttttgctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 154

<211> 327

PU63739

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

<400> 154
gacattgtga tgacccagtc tcaaaaattc atgtccgtaa cagtgggaga caggggcagc 60
atcacctgca aggccagtc gagtgtggga actactatag tctggtatca acagaaacca 120
ggacaatctc ctaaattact gatttactca gcatccaatc gacacactgg agtccctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcatttcca ccattagcaa tgtgcagctc 240
gaagacctgg cagattatct ctgtcagcaa tatagcagct atccattcac gtccggctcg 300
gggacaaagt tggaaataaa acgggct 327

<210> 155
<211> 345
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Heavy chain

<400> 155
gaggtgaagc ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60
tctgtgctg cctctggatt cacttttagt gacgcctgga tggactgggt ccgccagctc 120
ccagagaagg gacttgagtg ggttgcgtgaa attagacaca aagctaataa tcatgcaata 180
ttttatgatg agtctgtgaa agggagggtc accatctcaa gagatgattc caaaagtatt 240
gtctatctgc aaatqaacag cttagacct gaagacaccg gcatttatta ttgtaccagt 300
ccttttgctt actggggcca agggactctg gtcactglct ctgca 345

<210> 156
<211> 327
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Light chain

<400> 156

PU63739

gacattgtga tgacccagtc tcaaagattc atgtccgtaa cagtgggaga cagggtcagc 60
alcacctgca aggccagtc gagtgtgggt actactatag tctgggtatca acagaaacca 120
ggacaatctc ctaaactact gatttactca gcattccactc ggtatactgg ggtccctgat 180
cgcttcacag gcggtggatc tgggacagat ttcattctca ccattaacaa tgtgcagttc 240
gaagacctgg cagattatct ctgtcagcag tatagcagct atccattcac gttcggctcg 300
gggacaaagt tggaaataaa acgggct 327

<210> 157

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 157

gaagtgaagc ttgaggagtc tggaggagtc ttggggcaac ctggaggatc catgaaactc 60
tcttgtgctg cctctggatt caatttttagt gacgcctgga tggactgggt ccgccagtct 120
ccagaaaagg ggcttgagtg ggttctgtaa attagacaca aagctaataa tcatgcaata 180
ttctatgctg agtctgtgaa agggagggtc accatctcaa gagatgattc caaaagtagt 240
gtctacctcc aaatgaacag cttaagagct gaagacactg gcatttatta ctgtaccagc 300
ccttttgcctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 158

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 158

Glu Val Gln Leu Leu 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 Asp Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg His Lys Ala Asn Asp His Ala Ile Phe Tyr Asp Glu

107/110.

(01

PU63739

50						55						60					
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr		
65						70						75			80		
Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr		
				85					90					95			
Tyr	Cys	Thr	Ser	Pro	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr		
			100					105					110				
Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro		
		115					120					125					
Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val		
	130					135				140							
Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala		
145					150					155					160		
Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly		
				165					170				175				
Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly		
		180						185				190					
Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys		
	195					200				205							
Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys		
	210					215				220							
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Leu		
225					230					235					240		
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu		
				245					250					255			
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys		
		260						265				270					
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys		
	275					280				285							
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu		
	290					295				300							
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys		
305				310					315					320			
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys		
			325						330					335			
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser		
		340						345				350					
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys		
	355					360				365							

108/110

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 159

<211> 1335

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Heavy chain

<400> 159

gaggtgcagc tcttggagag cggcgggggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg 60
 agctgcgccg caagcggctt caccttcagc gacgcctgga tggattgggt gaggcaggcc 120
 cccggcaaaag gactggagtg ggtcgccgag atcaggcaca aggccaacga ccacgccatc 180
 ttctacgacg agagcgtgaa gggcaggttc accatctcca gggacgacag caagaacacc 240
 qtgtacctgc agatgaacag cctgagggcc gaagacaccg ctgtgtacta ctgcaccagc 300
 ccctttgcct actggggcca gggaaacta gtgaccgtgt ccagcgccag caccaagggc 360
 cccagcgtgt tccccctggc cccagcagc aagagcacca gggcggcac agccgccctg 420
 ggctgcctgg tgaaggacta ctccccgaa ccggttaccg tgtcctggaa cagcggagcc 480
 ctgaccagcg gcgtgcacac ctccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg 540
 agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcagc ctgggcaccc agacctacat ctgtaacgtg 600
 aaccacaagc ccagcaaacac caaggtggac aagaaggtgg agccaagag ctgtgacaag 660
 acccacacct gccccccctg ccctgcccc gagctggccg gagccccag cgtgttcctg 720
 tccccccca agcctaagga caccctgatg atcagcagaa cccccgaggt gacctgtgtg 780
 gtgggtgatg tgagccacga ggacctgag gtgaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840
 gaggtgcaca atgccaagac caagcccagg gaggagcagt acaacagcac ctaccgggtg 900
 gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggat tggctgaacg gcaaggagta caagtgtaa 960
 gtgtccaaca aggcctgcc tgccctatc gagaaaacca tcagcaaggc caagggccag 1020
 cccagagagc cccaggtgta caccctgcc cctagcagag atgagctgac caagaaccag 1080

PU63739

gtgtccctga	cctgcctggt	gaagggcttc	tacccagcg	acatgccgt	ggagtgggag	1140
agcaacggcc	agcccgagaa	caactacaag	accaccccc	ctgtgctgga	cagcgatggc	1200
agcttcttcc	tgtacagcaa	gctgaccgtg	gacaagagca	gatggcagca	gggcaacgtg	1260
ttcagctgct	ccgtgatgca	cgaggccctg	cacaatcact	acaccagaa	gagcctgagc	1320
ctgtcccttg	gcaag					1335

Polipéptidos y Método de Tratamiento

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a métodos para inhibir la agrecanasa, en particular, ADAMTS5, reduciendo de este modo la degradación de agrecano en cartílago.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El cartílago es un tejido avascular poblado por células especializadas denominadas condrocitos, que responden a diversos estímulos mecánicos y bioquímicos. El cartílago está presente en los revestimientos de las articulaciones, tejidos conectivos intersticiales y membranas basales y está compuesto por una matriz extracelular compuesta por varios componentes de la matriz, incluyendo colágeno tipo II, proteoglicanos, fibronectina y laminina.

En el cartílago normal, la síntesis de matriz extracelular está compensada por la degradación de matriz extracelular, dando como resultado una renovación normal de la matriz. Dependiendo de la señal o señales recibidas, la respuesta resultante puede ser anabólica (conduciendo a la producción y/o reparación de la matriz) o catabólica (conduciendo a la degradación de la matriz, apoptosis celular, pérdida de función y dolor).

En respuesta a una compresión perjudicial y/o una exposición a mediadores inflamatorios (por ejemplo, citocinas inflamatorias) los condrocitos disminuyen la producción de matriz y aumentan la producción de múltiples enzimas de degradación de la matriz. Los ejemplos de enzimas de degradación de la matriz incluyen agrecanasas (ADAMTS) y metaloproteasas de la matriz (MMP). Las actividades de estas enzimas dan como resultado la degradación de la matriz de cartílago. Las agrecanasas (ADAMTS), junto con las MMP, degradan el agrecano, un proteoglicano agregante presente en el cartílago articular. En el cartílago articular artrósico (OA) se observa una pérdida de tinción de proteoglicano en la zona superficial en la OA temprana y adyacente a áreas de erosión de cartílago en la OA de moderada a grave.

El catabolismo del agrecano, como está mediado por la agrecanasa, se produce en ciertos sitios conservados en el agrecano. Se ha demostrado que la ADAMTS4 humana (mostrada en la Figura 5 como SEC ID N°: 44) y la ADAMTS5 (mostrada en la Figura 4 como SEC ID N°: 43) escinden el agrecano entre los aminoácidos E373 y A374, produciendo el neopéptido ARGSVIL (SEC ID N°: 1).

Una degradación excesiva de la matriz extracelular está implicada en la patogénesis de muchas enfermedades y afecciones, incluyendo dolor, dolor crónico, dolor neuropático, dolor postoperatorio, artritis reumatoide, artrosis, lesiones deportivas, artritis erosiva,

neuralgia, neuropatías, algesia, lesión nerviosa, isquemia, neurodegeneración, degeneración del cartílago, ictus, incontinencia, trastornos inflamatorios, síndrome de colon irritable, enfermedad periodontal, angiogénesis aberrante, invasión tumoral y metástasis, ulceración corneal y en complicaciones de la diabetes.

- 5 Por lo tanto existe la necesidad de compuestos capaces de inhibir la actividad agreanasa y la degradación del cartílago.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona polipéptidos aislados que comprenden al menos un dominio variable capaz de unirse a y/o neutralizar la ADAMTS5 humana.

- 10 También se proporcionan polinucleótidos aislados que codifican los polipéptidos de la presente invención.

Además, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un polipéptido de la presente invención.

- 15 Se proporcionan en la presente memoria métodos para tratar a un paciente que padece una enfermedad del cartílago con una composición farmacéutica de la presente invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Figura 1: Inhibición *in vitro* de la generación del neoepítipo ARGSVII. (SEC ID N°: 1) de mAb de ADAMTS5.

- 20 Figura 2: Inhibición dependiente de la concentración *in vitro* de la generación del neoepítipo ARGSVII. (SEC ID N°: 1) para el mAb murino 7B4.1E11.

Figura 3: Puntuación articular total media para ratones tratados con anticuerpos de ADAMTS5 seleccionados frente al control *in vivo*

Figura 4: Secuencia de aminoácidos de la ADAMTS5 humana (SEC ID N°: 43).

- 25 Figura 5: Secuencia de aminoácidos de la ADAMTS4 humana (SEC ID N°: 44).

Figura 6: Unión de los anticuerpos anti-ADAMTS5 humanizados a antígeno recombinante.

Figura 7: Unión de los anticuerpos anti-ADAMTS5 humanizados a antígeno recombinante.

Figura 8: Unión de los anticuerpos anti-ADAMTS5 humanizados a antígeno recombinante.

Figura 9: Unión de los anticuerpos anti-ADAMTS5 humanizados a antígeno recombinante.

- 30 Figura 10: Porcentaje de inhibición de la actividad de ADAMTS5.

Figura 11: Porcentaje de inhibición de la actividad de ADAMTS5.

Figura 12: Unión de los anticuerpos anti-ADAMTS5 purificados a antígeno recombinante.

Figura 13: El modelado estructural predice los sitios de interacción de Ag/Ab.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 35 El término “polinucleótido” se refiere en general a cualquier polirribonucleótido o

polidesoxirribonucleótido que puede ser ARN o ADN no modificado o ARN o ADN modificado. Los "polinucleótidos" incluyen, sin limitación, ADN mono- y bicatenario, ADN que es una mezcla de regiones mono- y bicatenarias, ARN mono- y bicatenario y ARN que es una mezcla de regiones mono- y bicatenarias, moléculas híbridas que comprenden ADN y ARN que pueden ser monocatenarias o, más típicamente, bicatenarias, o una mezcla de regiones mono- y bicatenarias. Además, el término "polinucleótido" se refiere a regiones de triple cadena que comprenden ARN o ADN, o tanto ARN como ADN. El término "polinucleótido" también incluye ADN o ARN que contienen una o más bases modificadas y ADN o ARN con cadenas principales modificadas por estabilidad o por otras razones. Las bases "modificadas" incluyen, por ejemplo, bases tritiladas y bases poco habituales tales como inosina. Se han realizado una diversidad de modificaciones en el ADN y ARN; por lo tanto, el término "polinucleótido" incluye formas químicamente, enzimáticamente o metabólicamente modificadas de polinucleótidos como se encuentran típicamente en la naturaleza, así como las formas químicas de ADN y ARN características de virus y células. El término "polinucleótido" también incluye polinucleótidos relativamente cortos, con frecuencia denominados oligonucleótidos.

El término "polipéptido" se refiere a cualquier péptido o proteína que comprende dos o más aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos o enlaces peptídicos modificados, es decir, isoésteres peptídicos. El término "polipéptido" se refiere tanto a cadenas cortas, comúnmente denominadas péptidos, oligopéptidos u oligómeros, como a cadenas más largas, generalmente denominadas proteínas. Los polipéptidos pueden contener aminoácidos distintos de los 20 aminoácidos codificados por genes. Los "polipéptidos" incluyen secuencias de aminoácidos modificadas por procesos naturales, tales como procesamiento postraduccion, o por procedimientos de modificación química que son bien conocidos en la técnica. Dichas modificaciones están bien descritas en textos básicos y en monografías más detalladas, así como en una prolífica bibliografía de investigación. Pueden producirse modificaciones en cualquier parte de un polipéptido, incluyendo la cadena principal peptídica, las cadenas laterales de aminoácidos y los extremos terminales amino o carboxilo. Se apreciará que el mismo tipo de modificación puede estar presente en el mismo grado o en grados variables en varios sitios de un polipéptido dado. Además, un polipéptido dado puede contener muchos tipos de modificaciones. Los polipéptidos pueden estar ramificados como resultado de la ubiquitinación, y pueden ser cíclicos, con o sin ramificación. Los polipéptidos cíclicos, ramificados y cíclicos ramificados pueden ser el resultado de procesos naturales postraduccionales o pueden generarse por métodos sintéticos. Las modificaciones incluyen acetilación, acilación, ADP-ribosilación, amidación, unión covalente de flavina, unión

covalente de un resto hemo, unión covalente de un nucleótido o derivado de nucleótido, unión covalente de un lípido o derivado de lípido, unión covalente de fosfatidilinositol, entrecruzamiento, ciclación, formación de enlaces disulfuro, desmetilación, formación de enlaces cruzados covalentes, formación de cisteína, formación de piroglutamato, formilación, gamma-carboxilación, glicosilación, formación de anclajes GPI, hidroxilación, yodación, metilación, miristoilación, oxidación, procesamiento proteolítico, fosforilación, prenilación, racemización, selenoilación, sulfatación, adición de aminoácidos a proteínas mediada por ARN transferente, tal como arginilación y ubiquitinación. Véase, por ejemplo, PROTEINS - STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES, 2ª Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, Nueva York, 1993 y Wold, F., Posttranslational Protein Modifications: Perspectives and Prospects, págs. 1-12 en POSTTRANSLATIONAL COVALENT MODIFICATION OF PROTEINS, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, Nueva York, 1983; Seifter, *et al.*, "Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors", *Meth. Enzymol.* (1990) 182: 626-646 y Rattan, *et al.*, "Protein Synthesis: Posttranslational Modifications and Aging", *Ann NY Acad Sci* (1992) 663: 48-62.

Una "variante", como se usa el término en la presente memoria, es un polinucleótido o polipéptido que difiere de un polinucleótido o polipéptido de referencia, respectivamente, pero que conserva propiedades esenciales. Una variante típica de un polinucleótido difiere en su secuencia de nucleótidos de otro polinucleótido de referencia. Los cambios en la secuencia de nucleótidos de la variante pueden o no alterar la secuencia de aminoácidos de un polipéptido codificado por el polinucleótido de referencia. Los cambios de nucleótidos pueden dar como resultado sustituciones, adiciones, deleciones, fusiones y truncamientos de aminoácidos en el polipéptido codificado por la secuencia de referencia, como se analiza a continuación. Una variante típica de un polipéptido difiere en su secuencia de aminoácidos de otro polipéptido de referencia. En general, las diferencias son limitadas, de modo que las secuencias del polipéptido de referencia y la variante sean muy similares en su conjunto y, en muchas regiones, idénticas. Un polipéptido variante y de referencia pueden diferir en la secuencia de aminoácidos por una o más sustituciones, adiciones, deleciones, en cualquier combinación. Un resto aminoacídico sustituido o insertado puede o no ser uno codificado por el código genético. Una variante de un polinucleótido o polipéptido puede ser de origen natural, tal como una variante alélica, o puede ser una variante que no se conozca que aparezca en la naturaleza. Pueden generarse variantes de polinucleótidos y polipéptidos de origen no natural mediante técnicas de mutagénesis o mediante síntesis directa.

El término "aislado" significa alterado "por la mano del hombre" desde su estado natural, es decir, si aparece en la naturaleza, se ha modificado o retirado de su entorno

original, o ambos. Por ejemplo, un polinucleótido o polipéptido presente de forma natural en un organismo vivo no está “aislado”, pero el mismo polinucleótido o polipéptido separado de los materiales coexistentes de su estado natural está “aislado” incluyendo, pero sin limitación, cuando dicho polinucleótido o polipéptido se introduce de nuevo en una célula.

- 5 Un ácido nucleico o polinucleótido (por ejemplo, un ARN, ADN o un polímero mixto) “aislado” o “sustancialmente puro” es uno que está sustancialmente separado de otros componentes celulares que acompañan de forma natural al polinucleótido nativo en su célula hospedadora natural, por ejemplo, ribosomas, polimerasas y secuencias genómicas con las que se asocia de forma natural. El término incluye un ácido nucleico o polinucleótido que (1)
- 10 se ha retirado de su entorno de origen natural, (2) no está asociado con toda o una parte de un polinucleótido en el que el “polinucleótido aislado” se encuentra en la naturaleza, (3) está unido operativamente a un polinucleótido con el que no está unido en la naturaleza o (4) no aparece en la naturaleza. El término “aislado” o “sustancialmente puro” también puede usarse en referencia a aislados de ADN clonados o recombinantes, análogos de
- 15 polinucleótidos sintetizados químicamente o análogos de polinucleótidos que se sintetizan biológicamente por sistemas heterólogos.

- Sin embargo, el término “aislado” no requiere necesariamente que el propio polinucleótido o ácido nucleico así descrito se haya retirado físicamente de su entorno nativo. Por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico endógena en el genoma de un
- 20 organismo se considera “aislada” en la presente memoria si se coloca una secuencia heteróloga adyacente a la secuencia de ácido nucleico endógena, de modo que la expresión de esta secuencia de ácido nucleico endógena se altera, por ejemplo, se aumenta, disminuye o elimina. En este contexto, una secuencia heteróloga es una secuencia que de forma natural no está adyacente a la secuencia de ácido nucleico endógena, independientemente de que la
- 25 propia secuencia heteróloga sea endógena (originada de la misma célula hospedadora o progenie de la misma) o exógena (originada de una célula hospedadora o progenie de la misma diferente). A modo de ejemplo, una secuencia promotora puede sustituir (por ejemplo, por recombinación homóloga) al promotor nativo de un gen en el genoma de una célula hospedadora, de modo que este gen tenga un patrón de expresión alterado. Este gen se
- 30 convertiría ahora en “aislado”, porque está separado de al menos algunas de las secuencias que lo flanquean de forma natural.

- Un ácido nucleico también se considera “aislado” si contiene cualquier modificación que no aparezca de forma natural en el ácido nucleico correspondiente en un genoma. Por ejemplo, una secuencia codificante endógena se considera “aislada” si contiene una
- 35 inserción, delección o una mutación puntual introducida de forma artificial, por ejemplo, por

intervención humana. Un “ácido nucleico aislado” también incluye un ácido nucleico integrado en un cromosoma de una célula hospedadora en un sitio heterólogo y una construcción de ácido nucleico presente como un episoma. Además, un “ácido nucleico aislado” puede estar sustancialmente libre de otro material celular, o sustancialmente libre de medio de cultivo cuando se produce por técnicas recombinantes, o sustancialmente libre de
5 precursores químicos u otros compuestos químicos cuando se sintetiza químicamente.

Como se usan en la presente memoria, los “mediadores inflamatorios” incluyen cualquier compuesto capaz de desencadenar un proceso inflamatorio. El término inflamación se refiere generalmente al proceso de reacción de un tejido vivo vascularizado a una lesión.
10 Este proceso incluye, pero sin limitación, un aumento del flujo sanguíneo, aumento de la permeabilidad vascular y exudación leucocítica. Debido a que los leucocitos reclutados hacia las reacciones inflamatorias pueden liberar potentes enzimas y radicales libres de oxígeno (es decir, mediadores inflamatorios), la respuesta inflamatoria es capaz de mediar una lesión tisular considerable. Los ejemplos de mediadores inflamatorios incluyen, pero sin limitación,
15 prostaglandinas (por ejemplo, PGE₂), leucotrienos (por ejemplo LTB₄), citocinas inflamatorias, tales como factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), interleucina 1 (IL-1) e interleucina 6 (IL-6); óxido nítrico (NO); metaloproteinasas y proteínas de choque térmico.

Como se usa en la presente memoria, la expresión “proteína de la matriz” incluye proteínas liberadas de células para formar la matriz extracelular de cartílago. La matriz
20 extracelular de cartílago consiste en proteoglicanos que pertenecen a varias familias de proteoglicanos diferentes. Éstos incluyen, pero sin limitación, perlecano y los hialectanos, ejemplificados por agrecano y versicano, y la pequeña familia de proteoglicanos ricos en leucina, incluyendo decorina, biglicano y fibromodulina. La matriz extracelular también consiste en fibras de colágeno híbridas compuestas por tres isotipos de colágeno, en concreto
25 colágenos tipo II, tipo IX y tipo XI, junto con proteínas accesorias tales como proteína oligomérica de la matriz del cartílago (COMP), proteína de enlace y fibronectina. El cartílago también contiene hialuronina, que forma una asociación no covalente con las hialectinas. Además, una matriz pericelular especializada rodea al condrocito, que consiste en proteoglicanos, colágeno tipo VI y proteínas receptores de colágeno, tales como ancorina.

30 Como se usa en la presente memoria, la expresión “enzimas de degradación de la matriz” se refiere a enzimas capaces de escindir proteínas de la matriz extracelular. La renovación de la matriz extracelular del cartílago está regulada por metaproteasas de la matriz (MMP), que se sintetizan como proenzimas latentes que requieren activación para degradar las proteínas de la matriz extracelular del cartílago. Se cree que tres clases de
35 enzimas regulan la renovación de las proteínas de la matriz extracelular, en concreto

colagenasas (incluyendo, pero sin limitación, MMP-13), responsables de la degradación de fibras de colágeno nativo, estromelisin (incluyendo, pero sin limitación, MMP-3) que degradan el proteoglicano y el colágeno tipo IX, y gelatinasas (incluyendo, pero sin limitación, MMP-2 y MMP-9), que degradan el colágeno desnaturalizado. El grupo de
5 enzimas de degradación de la matriz que parece más importante en la degradación del cartilago en la OA incluye un subgrupo de metaloproteinasas denominadas ADAMTS, porque poseen dominios desintegrina y metaloproteinasa y un motivo tromboespondina en su estructura. Se ha descrito que la ADAMTS4 (agrecanasa-1) está elevada en articulaciones con OA, y se ha demostrado que junto con la ADAMTS-5 (agrecanasa-2) se expresa en
10 cartilago artroscópico humano. Estas enzimas parecen ser responsables de la degradación del agrecano sin participación de MMP.

Como se usan en la presente memoria, los términos “reducir” o “que reduce” la actividad agrecanasa se refieren a una disminución en cualquiera y/o todas las actividades asociadas con al menos una agrecanasa de origen natural, incluyendo, pero sin limitación,
15 ADAMTS4 y ADAMTS5. Por ejemplo, la expresión “que reduce” al menos una actividad de ADAMTS5 se refiere a una disminución en cualquiera y/o todas las actividades asociadas con la ADAMTS5 de origen natural. A modo ejemplo, la reducción de ADAMTS5 en una actividad de mamíferos puede medirse después de la administración de al menos un polipéptido capaz de unirse a ADAMTS5 a un sujeto y en comparación con la actividad de
20 ADAMTS5 en el mismo sujeto antes de la administración del polipéptido capaz de unirse a ADAMTS5, o en comparación con un segundo sujeto a que se le administra placebo. Como se usa en la presente memoria, la expresión “que reduce” al menos una ADAMTS5 incluye la reducción de al menos una o más actividades enzimáticas. Una reducción en al menos una actividad de ADAMTS5 incluye una supresión completa de al menos una ADAMTS5.
25 También se incluye en esta definición una cantidad reducida de al menos una actividad enzimática. Es decir, la ADAMTS5 puede tener más de una actividad, que se mantiene mientras se reduce una segunda actividad de la misma enzima.

Como se usa en la presente memoria, la expresión “enfermedades asociadas con degradación de cartilago” incluye, pero sin limitación, cáncer, dolor, dolor crónico, dolor neuropático, dolor postoperatorio, artrosis, lesiones deportivas, artritis erosiva, artritis reumatoide, artritis psoriásica, artritis de Lyme, artritis juvenil, neuralgia, neuropatías, algesia, lesión nerviosa, isquemia, neurodegeneración, enfermedades inflamatorias, degeneración del cartilago, enfermedades que afectan a la laringe, tráquea, canal auditivo, discos intervertebrales, ligamentos, tendones, cápsulas articulares o al desarrollo del hueso,
30 degeneración de discos intervertebrales, osteopenia o enfermedades periodontales, lesión

articular aguda y/o una enfermedad relacionada con la destrucción articular.

Como se usan en la presente memoria, los términos “coadministración” o “coadministrar”, como se usan en la presente memoria, se refieren a administración de dos o más compuestos al mismo paciente. La coadministración de dichos compuestos puede ser simultánea o a aproximadamente el mismo tiempo (por ejemplo, dentro de la misma hora) o puede ser con un intervalo de varias horas o días uno de otro. Por ejemplo, un primer compuesto puede administrarse una vez por semana mientras que un segundo compuesto se coadministra diariamente.

Como se usan en la presente memoria, los términos “atenuar” o “que atenúa”, se refieren a una normalización (es decir, un aumento o disminución) de la cantidad de enzima de degradación de la matriz, mediador inflamatorio o proteína de la matriz producida y/o liberada por una célula, después de la exposición a un estímulo catabólico. Por ejemplo, después de la exposición a IL-1, la producción de condrocitos de proteínas de la matriz, tales como proteoglicanos, se reduce, mientras que la producción de enzimas de degradación de la matriz (por ejemplo, MMP-13, ADAMTS4) y especies de oxígeno reactivo (por ejemplo, NO) se aumenta. La atenuación se refiere a la normalización de estas respuestas diversas a los niveles observados en ausencia de un estímulo catabólico.

Un “anticuerpo de dominio” o “dAb” puede considerarse lo mismo que un “dominio variable sencillo” que es capaz de unirse a un antígeno. Un dominio variable sencillo puede ser un dominio variable de anticuerpo humano, pero también incluye dominios variables de anticuerpo sencillos de otras especies tales como dAb de roedor (por ejemplo, como se describe en el documento WO 00/29004), tiburón nodriza y VHH de camélido. Las VHH de camélido son polipéptidos de dominio variable sencillo de inmunoglobulina que proceden de especies incluyendo camello, llama, alpaca, dromedario y guanaco, que producen anticuerpos de cadena pesada naturalmente desprovistos de cadenas ligeras. Dichos dominios VHH pueden humanizarse de acuerdo con procedimientos convencionales disponibles en la técnica, y dichos dominios se considera que son “anticuerpos de dominio”. Como se usa en la presente memoria, VH incluye dominios VHH de camélido.

La expresión “dominio variable sencillo” se refiere a un dominio variable de proteína de unión a antígeno (por ejemplo, V_H, V_{HH}, V_L) que se une específicamente a un antígeno o epítipo independientemente de un dominio o región variable diferente.

La expresión “proteína de unión a antígeno”, como se usa en la presente memoria, se refiere a anticuerpos, fragmentos de anticuerpos y otras construcciones de proteínas, tales como dominios, pero sin limitación, a dominios variables y anticuerpos de dominio que son capaces de unirse a un antígeno.

El dominio de unión a antígeno de un anticuerpo comprende dos regiones separadas: un dominio variable de cadena pesada (V_H) y un dominio variable de cadena ligera (V_L : que puede ser V_K o V_λ). El propio sitio de unión a antígeno está formado por seis bucles polipeptídicos: tres del dominio V_H (H_1 , H_2 y H_3) y tres del dominio V_L (L_1 , L_2 y L_3).

- 5 El análisis de las estructuras y secuencias de anticuerpos ha demostrado que cinco de los seis bucles de unión a antígeno (H_1 , H_2 , L_1 , L_2 , L_3) poseen un número limitado de conformaciones de cadena principal o estructuras canónicas (Chothia y Lesk (1987) *J. Mol. Biol.*, **196**: 901; Chothia *et al.* (1989) *Nature*, **342**: 877). Las conformaciones de cadena principal están determinadas por (i) la longitud del bucle de unión a antígeno, y (ii) restos particulares, o tipos de restos, en determinada posición clave en el bucle de unión a antígeno y la cadena principal de anticuerpo. El análisis de las longitudes de bucle y restos clave ha permitido predecir las conformaciones de cadena principal de H_1 , H_2 , L_1 , L_2 y L_3 codificadas por la mayoría de secuencias de anticuerpos humanas (Chothia *et al.* (1992) *J. Mol. Biol.*, **227**: 799; Tomlinson *et al.* (1995) *EMBO J.*, **14**: 4628; Williams *et al.* (1996) *J. Mol. Biol.*, **264**: 220). Aunque la región H_3 es mucho más diversa en términos de secuencia, longitud y estructura (debido al uso de segmentos D), también forma un número limitado de conformaciones de cadena principal para longitudes de bucle cortas que dependen de la longitud y de la presencia de restos particulares, o tipos de restos, en posiciones clave en el bucle y la cadena principal de anticuerpo (Martin *et al.* (1996) *J. Mol. Biol.*, **263**: 800; Shirai *et al.* (1996) *FEBS Letters*, **399**: 1).
- 10
- 15
- 20

- Se conocen en la técnica anticuerpos biespecíficos que comprenden pares complementarios de regiones V_H y V_L . Estos anticuerpos biespecíficos deben comprender dos pares de V_H y V_L , uniéndose cada par de V_H/V_L a un solo antígeno o epítipo. Los métodos descritos implican hibridomas híbridos (Milstein y Cuello AC, *Nature* 305: 537-40), minicuerpos (Hu *et al.*, (1996) *Cancer Res* 56: 3055-3061), diacuerpos (Holliger *et al.*, (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 6444-6448; documento WO 94/13804), anticuerpos recombinantes quelantes (CRAb; Neri *et al.*, (1995) *J. Mol. Biol.* 246, 367-373), bisclFv (por ejemplo, Atwell *et al.*, (1996) *Mol. Immunol.* 33, 1301-1312), anticuerpos estabilizados de "botón en ojal" (Carter *et al.*, (1997) *Protein Sci.* 6, 781-788). En cada caso cada especie de anticuerpo comprende dos sitios de unión a antígeno, cada uno formado por un par complementario de dominios de V_H y V_L . Por lo tanto, cada anticuerpo es capaz de unirse a dos antígenos o epítopos diferentes al mismo tiempo, estando la unión a cada antígeno o epítipo mediada por V_H y su dominio V_L complementario. Cada una de estas técnicas presenta sus desventajas particulares; por ejemplo, en el caso de los hibridomas híbridos, los
- 25
- 30

pares de V_H/V_L inactivos pueden reducir enormemente la fracción de IgG biespecífica. Además, la mayoría de las estrategias biespecíficas dependen de la asociación de los diferentes pares de V_H y V_L o la asociación de cadenas de V_H/V_L para recrear los dos sitios de unión V_H/V_L diferentes. Por lo tanto, es imposible controlar la proporción de sitios de
5 unión respecto a cada antígeno o epítipo en la molécula ensamblada y, por lo tanto, muchas de las moléculas ensambladas se unirán a un antígeno o epítipo pero no al otro. En algunos casos, ha sido posible modificar por ingeniería genética las cadenas pesadas o ligeras en las superficies de contacto de subunidades (Carter *et al.*, 1997) para mejorar el número de moléculas que tienen sitios de unión para ambos antígenos o epítopos pero esto nunca da
10 como resultado que todas las moléculas presenten unión a ambos antígenos o epítopos.

Existen algunas pruebas de que dos especificidades de unión a anticuerpo diferentes podrían incorporarse en el mismo sitio de unión, pero éstas representan generalmente dos o más especificidades que se corresponden con antígenos o epítopos estructuralmente relacionados o con anticuerpos que presentan una amplia reactividad cruzada. Por ejemplo,
15 se han descrito anticuerpos que presentan reactividad cruzada habitualmente cuando los dos antígenos están relacionados en secuencia y estructura, tal como la lisozima de clara de huevo de gallina y la lisozima de pavo (McCafferty *et al.*, documento WO 92/01047) o con hapteno libre y hapteno conjugado con vehículo (Griffiths AD *et al.* *EMBO J* 1994 13:14 3245-60). En un ejemplo adicional, el documento WO 02/02773 (Abbott Laboratories)
20 describe moléculas de anticuerpo con una "especificidad doble". Las moléculas de anticuerpo a las que se hace referencia son anticuerpos generados o seleccionados contra múltiples antígenos, de modo que su especificidad abarca más de un solo antígeno. Cada par de V_H/V_L complementarias en los anticuerpos del documento WO 02/02773 especifica una sola especificidad de unión para dos o más antígenos estructuralmente relacionados; los
25 dominios V_H y V_L en dichos pares complementarios no poseen cada uno una especificidad distinta. Por lo tanto, los anticuerpos tienen una sola especificidad amplia que incluye dos antígenos que están estructuralmente relacionados. Además, se han descrito autoanticuerpos naturales que son polirreactivos (Casali & Notkins, *Ann. Rev. Immunol.* 7, 515-531), reaccionando con al menos dos (habitualmente más) antígenos o epítopos diferentes que no
30 están estructuralmente relacionados. También se ha demostrado que selecciones de repertorios de péptidos aleatorios usando tecnología de presentación en fago en un anticuerpo monoclonal identificarán un intervalo de secuencias peptídicas que encajen en el sitio de unión a antígeno. Algunas de las secuencias están altamente relacionadas, ajustándose a una secuencia consenso, mientras que otras son muy diferentes y se han
35 denominado mimótopos (Lane y Stephen, *Current Opinion in Immunology*, 1993, 5, 268-

271). Por lo tanto, está claro que un anticuerpo de cuatro cadenas natural, que comprende dominios V_H y V_L complementarios y asociados, tiene el potencial de unirse a muchos antígenos diferentes de un gran universo de antígenos conocidos. Está menos claro cómo generar un sitio de unión para dos antígenos dados en el mismo anticuerpo, particularmente los que no están necesariamente estructuralmente relacionados.

Se han sugerido métodos de modificación por ingeniería genética de proteínas que pueden tener influencia sobre esto. Por ejemplo, también se ha propuesto que podría generarse un anticuerpo catalítico con una actividad de unión a un ión metálico por medio de un dominio variable y a un hapteno (sustrato) por medio de contactos con el ión metálico y un dominio variable complementario (Barbas et al., 1993 Proc. Natl. Acad. Sci USA 90, 6385-6389). Sin embargo, en este caso se propone que la unión y catálisis del sustrato (primer antígeno) requieren la unión del ión metálico (segundo antígeno). Por lo tanto, la unión al emparejamiento V_H/V_L se refiere a un solo antígeno pero multicomponente.

Se han descrito métodos para la creación de anticuerpos biespecíficos a partir de dominios sencillos de cadena pesada de anticuerpo de camello en los que se generan contactos de unión para un antígeno en un dominio variable, y para un segundo antígeno en un segundo dominio variable de inmunoglobulina. Sin embargo, los dominios variables no eran complementarios. Por lo tanto, se selecciona un primer dominio variable de cadena pesada contra un primer antígeno, y un segundo dominio variable de cadena pesada contra un segundo antígeno, y después ambos dominios se unen entre sí en la misma cadena para dar un fragmento de anticuerpo biespecífico (Conrath et al., *J. Biol. Chem.* 270, 27589-27594). Sin embargo, los dominios sencillos de cadena pesada de camello son poco habituales en el sentido de que proceden de anticuerpos de camello naturales que no tienen cadenas ligeras y, de hecho, los dominios sencillos de cadena pesada son incapaces de asociarse con cadenas ligeras de camello para formar pares de V_H y V_L complementarios.

También se han descrito dominios variables de cadena pesada sencillos procedentes de anticuerpos naturales que normalmente están asociados con cadenas ligeras (de anticuerpos monoclonales o de repertorios de dominios; véase el documento EP-A-0368684). Se ha demostrado que estos dominios variables de cadena pesada interaccionan específicamente con uno o más antígenos relacionados pero no se han combinado con otros dominios variables de cadena ligera o pesada para generar un ligando con una especificidad para dos o más antígenos diferentes. Además, se ha demostrado que estos dominios sencillos tienen una semivida *in vivo* muy corta. Por lo tanto, dichos dominios son de un valor terapéutico limitado.

Se ha sugerido generar fragmentos de anticuerpo biespecíficos por unión entre sí de

dominios variables de cadena pesada de diferente especificidad (como se ha descrito anteriormente). La desventaja con esta estrategia es que los dominios variables de anticuerpo aislados pueden tener una superficie de contacto hidrófoba que normalmente genera interacciones con la cadena ligera y se expone a disolvente y puede ser “adhesiva”,
5 permitiendo al dominio sencillo unirse a superficies hidrófobas. Además, en ausencia de una cadena ligera compañera, la combinación de dos o más dominios variables de cadena pesada diferentes y su asociación, posiblemente por medio de sus superficies de contacto hidrófobas, puede evitar que se unan a uno, si no a ambos ligandos a los que pueden unirse en aislamiento. Además, en este caso los dominios variables de cadena pesada no se
10 asociarían con dominios variables de cadena ligera complementarios y, por lo tanto, pueden ser menos estables y desplegarse fácilmente (Worn y Pluckthun, 1998 *Biochemistry* 37, 13120-7).

Como se usa en la presente memoria, el término “anticuerpo” incluye moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y
15 dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro. Cada cadena pesada está compuesta por una región variable de cadena pesada (abreviada en la presente memoria como V_H) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada está compuesta por tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera está compuesta por una región variable de cadena ligera (abreviada en la presente memoria como V_L) y una
20 región constante de cadena ligera. Las cadenas ligeras de anticuerpos (inmunoglobulinas) de cualquier especie de vertebrado pueden asignarse a uno de dos tipos claramente distintos, denominados kappa (κ) y lambda (λ), basándose en las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes. Las regiones variables de cadenas ligeras kappa se denominan en la presente memoria VK. La expresión V_L , como se usa en la presente memoria, pretende
25 incluir tanto las regiones variables de cadenas ligeras tipo kappa (VK) como de cadenas ligeras tipo lambda. La región constante de cadena ligera está compuesta por un dominio, CL. Las regiones V_H y V_L incluyen regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones flanqueantes (FR). Cada V_H y V_L está compuesta por
30 tres CDR y cuatro FR, organizadas desde el extremo amino-terminal al carboxi-terminal en el orden siguiente: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4.

Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, los anticuerpos pueden asignarse a clases diferentes. Existen cinco clases principales de anticuerpos intactos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM y varios de estos pueden
35 dividirse adicionalmente en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA

c IgA2. Los dominios constantes de cadena pesada que se corresponden con las diferentes clases de anticuerpos se denominan α , δ , ϵ , γ , y μ , respectivamente. Las estructuras de subunidades y configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas. La presente invención incluye anticuerpos de cualquiera de las clases o subclases (isotipos) mencionados anteriormente.

La expresión "anticuerpo", como se usa en la presente memoria, también pretende incluir anticuerpos, fragmentos de digestión, porciones específicas y variantes de los mismos, incluyendo miméticos de anticuerpos o comprendiendo porciones de anticuerpos que mimeticen la estructura y/o función de un anticuerpo o fragmento especificado o porción del mismo, incluyendo anticuerpos de cadena sencilla y fragmentos de los mismos; conteniendo cada uno al menos una CDR. Los fragmentos funcionales incluyen fragmentos de unión a antígeno que se unen a un antígeno ADAMTS5. Por ejemplo, los fragmentos de anticuerpo capaces de unirse a ADAMTS5 o una porción de la misma, incluyendo, pero sin limitación, fragmentos Fab (por ejemplo, por digestión con papaína), fabc (por ejemplo, por digestión con plasmina), pFc' (por ejemplo, por digestión con pepsina o plasmina), Fd (por ejemplo, por digestión con pepsina, reducción parcial y reagregación), Fv o scFv (por ejemplo, por técnicas de biología molecular), se incluyen en la presente invención. Los fragmentos de anticuerpo también pretenden incluir, por ejemplo, anticuerpos de dominio delecionado, diacuerpos, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo de cadena sencilla y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

La expresión "anticuerpo monoclonal", como se usa en la presente memoria, se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, por ejemplo, los anticuerpos individuales que comprenden la población son sustancialmente idénticos excepto por mutaciones de origen natural posibles o variaciones postraduccionales minoritarias que pueden estar presentes. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, estando dirigidos contra un solo sitio antigénico. Además, al contrario que las preparaciones de anticuerpo convencional (policlonal), que incluyen típicamente diferentes anticuerpos dirigidos contra determinantes diferentes (epítomos), cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un solo determinante en el antígeno. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo como que se obtiene de una población sustancialmente homogénea de anticuerpos y no debe interpretarse que requiere la producción del anticuerpo por ningún método particular. Los anticuerpos monoclonales de la presente invención se generan preferiblemente por métodos de ADN recombinante o se obtienen por métodos de exploración como se describe en otra parte de la presente memoria.

La expresión "anticuerpos monoclonales", como se usa en la presente memoria,

incluye anticuerpos “quiméricos” (inmunoglobulinas) en los que una porción de la cadena ligera y/o pesada es idéntica a u homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular, o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de la cadena o cadenas son idénticas a u homólogas a las
5 secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de otra especie (por ejemplo, ratón o rata) o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpo, así como fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que presenten la actividad biológica deseada (Morrison *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851-6855 (1984)). Los anticuerpos quiméricos de interés en la presente memoria incluyen anticuerpos “primatizados”, que comprenden secuencias de unión
10 antígeno de dominio variable derivadas de un primate no humano (por ejemplo, monos del viejo mundo, tal como babuino, mono rhesus o cynomolgus) y secuencias de región constante humana (Patente de Estados Unidos N° 5.693.780).

Por lo tanto, la presente invención incluye, por ejemplo, anticuerpos monoclonales quiméricos que comprenden una cadena pesada quimérica y/o una cadena ligera quimérica.
15 La cadena pesada quimérica puede comprender cualquiera de las regiones variables de cadena pesada (V_H) descritas en la presente memoria o mutantes o variantes de las mismas fusionada a una región constante de cadena pesada de un anticuerpo humano o no humano. La cadena ligera quimérica puede comprender cualquiera de las regiones variables de cadena ligera (V_L) descritas en la presente memoria o mutantes o variantes de la misma fusionada a
20 una región constante de cadena ligera de un anticuerpo humano o no humano.

La expresión “anticuerpo humano”, como se usa en la presente memoria, incluye anticuerpos que tienen regiones constantes y variables que se corresponden con secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana, como se describe por Kabat *et al.* (Véase Kabat, *et al.* (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Quinta Edición, U.S.
25 Department of Health y Human Services, Publicación NIH N° 91-3242). Los anticuerpos humanos de la invención pueden incluir restos aminoacídicos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica *in vitro* o por mutación somática *in vivo*), por ejemplo en las CDR y, en particular, CDR3. El anticuerpo humano puede tener al menos una posición
30 sustituida con un resto aminoacídico, por ejemplo un resto aminoacídico potenciador de la actividad que no esté codificado por la secuencia de inmunoglobulina de la línea germinal humana. En el contexto de la presente invención, el anticuerpo humano puede tener hasta veinte posiciones sustituidas con restos aminoacídicos que no sean parte de la secuencia de inmunoglobulina de la línea germinal humana. En otras realizaciones, se sustituyen hasta
35 diez, hasta cinco, hasta tres o hasta dos posiciones. Sin embargo, la expresión “anticuerpo

humano”, como se usa en la presente memoria, no pretende incluir anticuerpos en los que secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como ratón, se ha injertado en secuencias flanqueantes humanas.

La expresión “anticuerpo humano recombinante” incluye anticuerpos humanos que se preparan, expresan, generan, aíslan por medios recombinantes, tal como anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante transfectado en una célula hospedadora, anticuerpos aislados a partir de una biblioteca de anticuerpos humanos combinatoria recombinante, anticuerpos aislados de un animal que sea transgénico para genes de inmunoglobulina humanos, o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique corte y empalme de secuencias génicas de inmunoglobulina humana con otras secuencias de ADN. Dichos anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (Véase Kabat, E. A., *et al.* (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Quinta Edición, U.S. Department of Health y Human Services, Publicación NIH N° 91-3242). De acuerdo con la presente invención, los anticuerpos humanos recombinantes incluyen secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana que se han sometido a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se usa un animal transgénico para secuencias de Ig humanas, mutagénesis somática *in vivo*) y, por lo tanto, las secuencias de aminoácidos de las regiones V_H y V_L de los anticuerpo recombinantes son secuencias que, aunque proceden de y están relacionadas con secuencias de V_H y V_L de la línea germinal humana, pueden no existir de forma natural dentro del repertorio de la línea germinal de anticuerpos humanos *in vivo*. En ciertas realizaciones, sin embargo, dichos anticuerpos recombinantes son el resultado de una estrategia de mutagénesis selectiva o retromutación o ambas.

Los anticuerpos de la presente invención pueden ser anticuerpos aislados. Un “anticuerpo aislado”, como se usa en la presente memoria, incluye un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen especificidades antigénicas diferentes. Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular y/o compuesto químico.

Los anticuerpos intactos incluyen glicoproteínas heteromultiméricas que comprenden al menos dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. Aparte de IgM, los anticuerpos intactos son habitualmente glicoproteínas heterotetraméricas de aproximadamente 150 Kda, compuestas por dos cadenas ligeras idénticas (L) y dos cadenas pesadas idénticas (H). Típicamente, cada cadena ligera se une a una cadena pesada por un enlace disulfuro covalente mientras que el número de enlaces disulfuro entre las cadenas

pesadas de isotipos de inmunoglobulinas diferentes varía. Cada cadena pesada y ligera también tiene puentes disulfuro intracatenarios. Cada cadena pesada tiene en un extremo un dominio variable (V_H) seguido de un número de regiones constantes. Cada cadena ligera tiene un dominio variable (V_L) y una región constante en su otro extremo; la región constante de la cadena ligera se alinea con la primera región constante de la cadena pesada y el dominio variable de cadena ligera se alinea con el dominio variable de la cadena pesada. Las cadenas ligeras de anticuerpos de la mayoría de especies de vertebrados pueden asignarse a uno de dos tipos denominados Kappa y Lambda, basándose en la secuencia de aminoácidos de la región constante. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos de la región constante de sus cadenas pesadas, los anticuerpos humanos pueden asignarse a cinco clases diferentes, IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. IgG e IgA pueden subdividirse adicionalmente en subclases, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4; e IgA1 e IgA2. Existen variantes de especies con ratón y rata que tienen al menos IgG2a, IgG2b. El dominio variable del anticuerpo confiere especificidad de unión en el anticuerpo presentando ciertas regiones una variabilidad particular denominada regiones determinantes de complementariedad (CDR). Las porciones más conservadas de la región variable se denominan regiones flanqueantes (FR). Los dominios variables de las cadenas pesada y ligera intactas comprenden cada uno cuatro FR conectadas por tres CDR. Las CDR en cada cadena se mantienen unidas en estrecha proximidad por las regiones FR y con las CDR de la otra cadena contribuyen a la formación del sitio de unión a antígeno de anticuerpos. Las regiones constantes no están directamente implicadas en la unión del anticuerpo al antígeno, pero presentan diversas funciones efectoras tales como participación en la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis por medio de unión a receptor de Fc γ , semivida/tasa de aclaramiento por medio del receptor de Fc neonatal (FcRn) y citotoxicidad dependiente del complemento por medio del componente C1q de la cascada del complemento.

Pueden producirse anticuerpos humanos por varios métodos conocidos por los expertos en la materia. Pueden generarse anticuerpos humanos por el método de hibridoma usando líneas celulares de mieloma humano o heteromieloma de ratón-humano, véase Kozbor J. Immunol 133, 3001, (1984) y Brodeur, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, págs. 51-63 (Marcel Dekker Inc, 1987). Los métodos alternativos incluyen el uso de bibliotecas de fagos o ratones transgénicos, utilizando ambos repertorios de región V humana (véase Winter G, (1994), Annu. Rev. Immunol 12,433-455, Green LL (1999), J.Immunol.methods 231, 11-23).

Actualmente están disponibles varias cepas de ratones transgénicos en los que sus loci de inmunoglobulina de ratón se han sustituido con segmentos génicos de

inmunoglobulina humana (véase Tomizuka K, (2000) PNAS 97, 722-727; Fishwild D. M (1996) Nature Biotechnol. 14, 845-851, Mendez MJ, 1997, Nature Genetics, 15,146-156). Tras la exposición a antígeno, dichos ratones son capaces de producir un repertorio de anticuerpos humanos a partir del que pueden seleccionarse anticuerpos de interés. Es de
5 interés particular el sistema TrimerTM (véase Eren R *et al*, (1998) Immunology 93: 154-161) en el que se trasplantan linfocitos humanos a ratones irradiados, el Sistema de Anticuerpos de Linfocitos Seleccionados (SLAM, véase Babcock *et al*, PNAS (1996) 93: 7843-7848) en el que linfocitos humanos (o de otra especie) se pasan eficazmente por un procedimiento de generación de anticuerpos *in vitro* combinado masivo seguido de un procedimiento de
10 selección y dilución limitante deconvolucionado y el Xenomouse IITM (Abgenix Inc). Está disponible una estrategia alternativa en Morphotek Inc usando la tecnología MorphodomaTM.

Puede usarse tecnología de presentación en fago para producir anticuerpos humanos (y fragmentos de los mismos), véase McCafferty; Nature, 348, 552-553 (1990) y Griffiths AD *et al* (1994) EMBO 13:3245-3260. De acuerdo con esta técnica, se clonan genes de
15 dominio V de anticuerpo en fase de lectura en un gen de proteína de cubierta principal o secundaria de un bacteriófago filamentoso tal como M13 o fd, y se presentan (habitualmente con la ayuda de un fago auxiliar) como fragmentos de anticuerpos funcionales en la superficie de la partícula de fago. Selecciones basadas en las propiedades funcionales del anticuerpo dan como resultado la selección del gen que codifica el anticuerpo que muestra
20 esas propiedades. La técnica de presentación en fago puede usarse para seleccionar anticuerpos específicos de antígeno de bibliotecas generadas a partir de células B humanas tomadas de individuos aquejados de una enfermedad o trastorno descrito anteriormente o, como alternativa, a partir de donantes humanos no inmunizados (véase Marks; J. Mol. Bio. 222, 581-597, 1991). Cuando se desee un anticuerpo humano intacto que comprenda un
25 dominio Fc es necesario volver a clonar el fragmento derivado presentado en fago en un vector de expresión de mamífero que comprenda las regiones constantes deseadas y establecer líneas celulares de expresión estable.

La técnica de maduración por afinidad (Marks; Bio/technol 10, 779-783 (1992)) puede usarse para mejorar la afinidad de unión, donde la afinidad del anticuerpo humano
30 primario se mejora sustituyendo de forma secuencial las regiones V de cadena H y L con variantes de origen natural y seleccionando basándose en afinidades de unión mejoradas. Actualmente también están disponibles variantes de esta técnica tales como "huella epitópica", véase el documento WO 93/06213. Véase también Waterhouse; Nucl. Acids Res 21, 2265-2266 (1993).

35 El uso de anticuerpos no humanos intactos en el tratamiento de enfermedades o

111

trastornos humanos acarrea el potencial de los problemas de inmunogenicidad actualmente bien establecidos, que son que el sistema inmune del paciente puede reconocer el anticuerpo intacto no humano como no propio y montar una respuesta neutralizante. Esta reacción es particularmente evidente tras la administración múltiple del anticuerpo no humano a un paciente humano. Se han desarrollado diversas técnicas con los años para superar estos problemas y generalmente implican reducir la composición de secuencias de aminoácidos no humanas en el anticuerpo intacto, al tiempo que se mantiene la facilidad relativa de obtención de anticuerpos no humanos a partir de un animal inmunizado, por ejemplo, ratón, rata o conejo. En líneas generales se han usado dos estrategias para conseguir esto. La primera son anticuerpos quiméricos, que generalmente comprenden un dominio variable no humano (por ejemplo, de roedor tal como ratón) fusionado a una región constante humana. Debido a que el sitio de unión a antígeno de un anticuerpo se localiza dentro de las regiones variables, el anticuerpo quimérico conserva su afinidad de unión por el antígeno pero adquiere las funciones efectoras de la región constante humana y, por lo tanto, es capaz de realizar funciones efectoras como las descritas anteriormente. Los anticuerpos quiméricos se producen típicamente usando métodos de ADN recombinante. El ADN que codifica los anticuerpos (por ejemplo, ADNc) se aísla y secuencia usando procedimientos convencionales (por ejemplo, mediante el uso de sondas oligonucleotídicas que son capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas H y L del anticuerpo de la invención, por ejemplo, ADN que codifica las SEC ID N° 2, 3, 4, 5, 6 y 7 descritas anteriormente. Las células de hibridoma sirven como fuente típica de dicho ADN. Una vez aislado, el ADN se coloca en vectores de expresión que después se transfectan en células hospedadoras tales como *E. coli*, células COS, células CHO o células de mieloma que de otro modo no producen proteína de inmunoglobulina para obtener síntesis del anticuerpo. El ADN puede modificarse sustituyendo con la secuencia codificante de cadenas L y H humanas las regiones constantes H y L no humanas correspondientes (por ejemplo, murinas); véase, por ejemplo, Morrison; PNAS 81, 6851 (1984).

La segunda estrategia implica la generación de anticuerpos humanizados en los que el contenido no humano del anticuerpo se reduce humanizando las regiones variables. Pueden generarse anticuerpos humanizados por injerto de CDR. Las CDR construyen bucles próximos al extremo N-terminal del anticuerpo donde forman una superficie montada en un armazón proporcionado por las regiones flanqueantes. La especificidad de unión a antígeno del anticuerpo está definida principalmente por la topografía y por las características químicas de su superficie de CDR. Estas características están determinadas a su vez por la conformación de las CDR individuales, por la disposición relativa de las CDR y por la

naturaleza y disposición de las cadenas laterales de los restos que comprenden las CDR. Puede conseguirse una gran disminución de la inmunogenicidad por injerto solo de las CDR de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) (anticuerpos "donantes") sobre regiones constantes y flanqueantes humanas ("región flanqueante aceptora") (véase Jones *et al* (1986) Nature 321, 522-525 y Verhoeven M *et al* (1988) Science 239, 1534-1536). Sin embargo, el injertado de CDR por sí mismo puede no dar como resultado una retención completa de las propiedades de unión a antígeno y con frecuencia se encuentra que algunos restos de la región flanqueante (a veces denominadas "retromutaciones") del anticuerpo donante tienen que preservarse en la molécula humanizada si se va a recuperar una afinidad de unión a antígeno significativo (véase Queen C *et al* (1989) PNAS 86, 10.029-10.033, Co, M *et al* (1991) Nature 351, 501-502). En este caso, se seleccionan regiones V humanas que muestren la mayor homología de secuencia con el anticuerpo donante no humano de una base de datos para proporcionar la región flanqueante humana (FR). La selección de FR humanas puede estar constituida por anticuerpos humanos individuales o de consenso humanos. Cuando es necesario, los restos clave del anticuerpo donante se sustituyen en la región flanqueante aceptora humana para preservar las conformaciones de CDR. Puede usarse modelado por ordenador del anticuerpo para ayudar a identificar dichos restos estructuralmente importantes, véase el documento WO99/48523.

Como alternativa, puede conseguirse la humanización mediante un proceso de "revestimiento". Un análisis estadístico de regiones variables de cadena ligera y pesada de inmunoglobulina murina y humana únicas puso de manifiesto que los patrones exactos de restos expuestos son diferentes en los anticuerpos humanos y murinos, y la mayoría de posiciones superficiales individuales tienen una fuerte preferencia por un pequeño número de restos diferentes (véase, Padlan E. A. *et al*; (1991) Mol. Immunol. 28, 489-498 y Pedersen J. T. *et al* (1994) J.Mol.Biol. 235; 959-973). Por lo tanto, es posible reducir la inmunogenicidad de un Fv no humano sustituyendo los restos expuestos en sus regiones flanqueantes que difieren de los que se encuentran habitualmente en anticuerpos humanos. Debido a que la antigenicidad de la proteína puede correlacionarse con la accesibilidad superficial, la sustitución de los restos superficiales puede ser suficiente para volver a la región variable de ratón "invisible" para el sistema inmune humano (véase también, Mark G. E. *et al* (1994) en *Handbook of Experimental Pharmacology vol.113: The pharmacology of monoclonal Antibodies*, Springer-Verlag, págs. 105-134). Este procedimiento de humanización se denomina "revestimiento", porque sólo se altera la superficie del anticuerpo, permaneciendo sin alteraciones los restos de soporte.

Por lo tanto, la presente invención proporciona proteínas de unión a antígeno

112

aisladas que comprenden al menos un primer dominio variable de inmunoglobulina capaz de unirse a una agreanasa. En una realización, la agreanasa es ADAMTS5 humana. En algunos casos, la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo o fragmento del mismo. El anticuerpo puede ser un anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo. En algunos casos, los anticuerpos monoclonales o fragmentos de los mismos de la presente invención son de ratón, quiméricos, humanizados o totalmente humanos.

En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende al menos una región determinante de complementariedad. En algunos casos, la proteína de unión a antígeno de la presente invención es un anticuerpo monoclonal que comprende una cadena pesada que comprende CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una cadena ligera que comprende CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en el que las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la cadena pesada se seleccionan del grupo de:

- CDRH1 que tiene una identidad de secuencia de al menos aproximadamente 80% con la secuencia de aminoácidos DAWMD (SEC ID N°: 2);
- CDRH2 que tiene una identidad de secuencia de al menos aproximadamente 70, 75, 80, 85, 90, 95 ó 98% con la secuencia de aminoácidos EIRHKANDHIAIFYXESVKG (SEC ID N°: 3); y
- CDRH3 que tiene una identidad de secuencia de al menos aproximadamente 70, 75, 80, 85, 90, 95 ó 98% con la secuencia de aminoácidos TYYYGSSYGYCDV (SEC ID N°: 4) o PFAY (SEC ID N°: 5); y

las regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera se seleccionan del grupo de:

- CDRL1 que tiene una identidad de secuencia de al menos aproximadamente 70, 75, 80, 85, 90, 95 ó 98% con la secuencia de aminoácidos KASQSVGTTIV (SEC ID N°: 6) o RTSENIYSYLA (SEC ID N°: 7);
- CDRL2 que tiene una identidad de secuencia de al menos aproximadamente 70, 75, 80, 85, 90, 95 ó 98% con la secuencia de aminoácidos NAKTLAE (SEC ID N°: 8) o SASNRXT (SEC ID N°: 9); y
- CDRL3 que tiene una identidad de secuencia de al menos aproximadamente 70, 75, 80, 85, 90, 95 ó 98% con la secuencia de aminoácidos QQYSSYPFT (SEC ID N°: 10) o QHHYGTPWT (SEC ID N°: 11).

En una realización, la CDRH2 tiene una identidad de secuencia de al menos aproximadamente 70, 75, 80, 85, 90, 95 ó 98% con una secuencia de aminoácidos seleccionada de EIRHKANDHIAIFYAESVKG (SEC ID N°: 12), EIRNKANNHARIHYAESVKG (SEC ID N°: 13), EIRHKANDYAIIFYDESXVKG (SEC ID

Nº: 14), EIRHKANDHAIFYDESVKG (SEC ID Nº: 15), DIRNTANNHATFYAESVKG (SEC ID Nº: 16) y EIRHKANDHAIFYDESVKG (SEC ID Nº: 17). En una realización, la CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos PFAY (SEC ID Nº: 5).

En otra realización más, las proteínas de unión a antígeno de la presente invención son anticuerpos monoclonales que comprenden una cadena pesada que comprende CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una cadena ligera que comprende CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en los que las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la cadena pesada se seleccionan de:

la CDRH1 es la secuencia de aminoácidos DAWMD (SEC ID Nº: 2);
 10 la CDRH2 se selecciona de las secuencias de aminoácidos EIRHKANDHAIFYAESVKG (SEC ID Nº: 12), EIRNKANNHARHYAESVKG (SEC ID Nº: 13), EIRHKANDYAIFYDESVKG (SEC ID Nº: 14), EIRHKANDHAIFYDESVKG (SEC ID Nº: 15), DIRNTANNHATFYAESVKG (SEC ID Nº: 16) o
 15 EIRHKANDHAIFYDESVKG (SEC ID Nº: 17); y
 la CDRH3 es TYYYGSSYGYCDV (SEC ID Nº: 18) o PFAY (SEC ID Nº: 5); y

las regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera se seleccionan de:

la CDRL1 se selecciona de las secuencias de aminoácidos KASQSVGTIV (SEC ID Nº: 19), RTSENIYSYLA (SEC ID Nº: 20), o KASQNVGTAVV (SEC ID Nº: 21);
 20 la CDRL2 se selecciona de las secuencias de aminoácidos NAKTLAE (SEC ID Nº: 22), SASNRHT (SEC ID Nº: 23), SASTRYT (SEC ID Nº: 24) o SASNRYT (SEC ID Nº: 25); y
 25 la CDRL3 se selecciona de las secuencias de aminoácidos QQYSSYPFT (SEC ID Nº: 26), QHHYGTPWT (SEC ID Nº: 27), QQYVNPFT (SEC ID Nº: 28) o QQYTSYPFT (SEC ID Nº: 29).

Por lo tanto, en una realización de la presente invención, se proporciona un anticuerpo monoclonal aislado que comprende seis CDR, en las que la CDRH1 es DAWMD (SEC ID Nº: 2), la CDRH2 es EIRNKANNHARHYAESVKG (SEC ID Nº: 13) y la CDRH3 es TYYYGSSYGYCDV (SEC ID Nº: 18) y la CDRL1 es RTSENIYSYLA (SEC ID Nº: 20), la CDRL2 es NAKTLAE (SEC ID Nº: 22) y la CDRL3 es QHHYGTPWT (SEC ID Nº: 27). En otra realización de la presente invención, se proporciona un anticuerpo monoclonal aislado que comprende seis CDR en las que la CDRH1 es DAWMD (SEC ID Nº: 2), la
 30 CDRH2 es EIRHKANDHAIFYDESVKG (SEC ID Nº: 15) y la CDRH3 es PFAY (SEC ID
 35

Nº: 5) y la CDRL1 es KASQSVGTTIV (SEC ID Nº: 19), la CDRL2 es SASNRHT (SEC ID Nº: 23) y la CDRL3 es QQYTSYPFT (SEC ID Nº: 29).

En otra realización más, las proteínas de unión a antígeno de la presente invención son anticuerpos monoclonales que comprenden una cadena pesada que comprende CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una cadena ligera que comprende CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en los que las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la cadena pesada se seleccionan de:

la CDRH1 es la secuencia de aminoácidos DAWMD (SEC ID Nº: 2), en la que cualquier aminoácido de la SEC ID Nº: 2 se sustituye en una posición por un aminoácido seleccionado de histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, alanina, arginina, ácido aspártico, cisteína, cistina, ácido glutámico, glutamina, glicina, ornitina, prolina, serina, taurina y tirosina;

la CDRH2 se selecciona de las secuencias de aminoácidos EIRHKANDHAIIFYAESVKG (SEC ID Nº: 12), EIRNKANNHARIIFYAESVKG (SEC ID Nº: 13), EIRHKANDYAIIFYDESVKG (SEC ID Nº: 14), EIRHKANDHAIIFYDESVKG (SEC ID Nº: 15), DIRNTANNHATIFYAESVKG (SEC ID Nº: 16) o EIRHKANDHAIIFYDESVKG (SEC ID Nº: 17), en las que cualquier aminoácido de las SEC ID Nº: 12-17 se sustituye en una posición por un aminoácido seleccionado de histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, alanina, arginina, ácido aspártico, cisteína, cistina, ácido glutámico, glutamina, glicina, ornitina, prolina, serina, taurina y tirosina; y

la CDRH3 es TYYYGSSYGYCDV (SEC ID Nº: 18) o PFAY (SEC ID Nº: 5), en la que cualquier aminoácido de las SEC ID Nº: 18 y 5 se sustituye en una posición por un aminoácido seleccionado de histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, alanina, arginina, ácido aspártico, cisteína, cistina, ácido glutámico, glutamina, glicina, ornitina, prolina, serina, taurina y tirosina; y

las regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera se seleccionan de:

la CDRL1 se selecciona de las secuencias de aminoácidos KASQSVGTTIV (SEC ID Nº: 19), RTSENIYSYLA (SEC ID Nº: 20) o KASQNVGTAVV (SEC ID Nº: 21), en las que cualquier aminoácido de las SEC ID Nº: 19-21 se sustituye en una posición por un aminoácido seleccionado de histidina,

isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, alanina, arginina, ácido aspártico, cisteína, cistina, ácido glutámico, glutamina, glicina, ornitina, prolina, serina, taurina y tirosina;

5 la CDRL2 se selecciona de las secuencias de aminoácidos NAKTLAE (SEC ID N°: 22), SASNRHT (SEC ID N°: 23), SASTRYT (SEC ID N°: 24) o SASNRYT (SEC ID N°: 25), en las que cualquier aminoácido de las SEC ID N°: 22-25 se sustituye en una posición por un aminoácido seleccionado de histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, alanina, arginina, ácido aspártico, cisteína, cistina, ácido glutámico, glutamina, glicina, ornitina, prolina, serina, taurina y tirosina; y

10 la CDRL3 se selecciona de las secuencias de aminoácidos QQYSSYPFT (SEC ID N°: 26), QHHYGTPWT (SEC ID N°: 27), QQYVNYPT (SEC ID N°: 28) o QQYTSYPFT (SEC ID N°: 29), en las que cualquier aminoácido de las SEC ID N°: 26-29 se sustituye en una posición por un aminoácido seleccionado de histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, alanina, arginina, ácido aspártico, cisteína, cistina, ácido glutámico, glutamina, glicina, ornitina, prolina, serina, taurina y tirosina.

Las CDR L1, L2, L3, H1 y H2 tienden a presentar estructuralmente una de un número finito de conformaciones de cadena principal. La clase de estructura canónica particular de una CDR se define tanto por la longitud de la CDR como por el empaquetamiento de bucles, determinado por restos localizados en posiciones clave tanto en las CDR como en las regiones flanqueantes (restos estructuralmente determinantes o SDR). Martin y Thornton (1996; J Mol Biol 263: 800-815) han generado un método automático para definir los moldes canónicos de "restos clave". Se usa análisis de grupos para definir las clases canónicas para conjuntos de CDR y después se identifican moldes canónicos por análisis de interacciones hidrófobas enterradas, restos de formación de enlaces de hidrógeno y glicinas y prolinas conservadas. Las CDR de secuencias de anticuerpos pueden asignarse a clases canónicas por comparación de las secuencias con los moldes de restos clave y puntuación de cada molde usando matrices de identidad o similitud.

30 Se proporcionan a continuación ejemplos de canónicos de CDR dentro del alcance de la invención. La numeración de aminoácidos usada es la de Kabat.

Los ejemplos de canónicos para la CDRH1 como se expone en la SEC ID N°: 144 o una variante de la misma son: la Ala 32 se sustituye por Ile, His, Tyr, Phe, Thr, Asn, Cys, Glu o Asp; el Trp 33 se sustituye por Tyr, Ala, Gly, Thr, Leu o Val; la Met 34 se sustituye por Ile, Val o Trp; y el Asp 35 se sustituye por His, Glu, Asn, Gln, Ser, Tyr o Thr.

Los ejemplos de canónicos para la CDRH2 como se expone en la SEC ID N°: 144 o una variante de la misma son: el Glu 50 se sustituye por Arg o Gln; y la Ile 51 se sustituye por Leu, Val, Thr, Ser o Asn.,

Los ejemplos de canónicos para la CDRH3 como se expone en la SEC ID N°: 144 o una variante de la misma son: la Tyr 102 se sustituye por His, Val, Ile, Ser, Asp o Gly.

Los ejemplos de canónicos para la CDR1.1 como se expone en la SEC ID N°: 146 o una variante de la misma son: la Ser 28 se sustituye por Asn, Asp, Thr o Glu; la Val 29 se sustituye por Ile; la Gly 30 se sustituye por Asp, Leu, Tyr, Val, Ile, Ser, Asn, Phe, His o Thr; la Thr 31 se sustituye por Ser, Asn, Lys o Gly; la Thr 32 se sustituye por Phe, Tyr, Asn, Ala, His, Ser o Arg; la Ile 33 se sustituye por Met, Leu, Val o Phe; y la Val 34 se sustituye por Ala, Gly, Asn, Ser, His o Phe.

Los ejemplos de canónicos para la CDR1.3 como se expone en la SEC ID N°: 146 o una variante de la misma son: la Gln 89 se sustituye por Ser, Gly, Phe o Leu; la Gln 90 se sustituye por Asn o His; la Tyr 91 se sustituye por Asn, Phe, Gly, Ser, Arg, Asp, His, Thr o Val; la Thr 92 se sustituye por Asn, Tyr, Trp, Ser, Arg, Gln, His, Ala o Asp; la Ser 93 se sustituye por Gly, Asn, Thr, Arg, Glu, Ala o His; la Tyr 94 se sustituye por Asp, Thr, Val, Leu, His, Asn, Ile, Trp, Pro o Ser; y la Phe 96 se sustituye por Pro, Leu, Tyr, Arg, Ile o Trp.

En otros aspectos, la proteína de unión a antígeno es un fragmento de Fab o F(ab)₂. En otra realización, el primer dominio variable de inmunoglobulina es un dominio variable de cadena sencilla.

En una realización de la presente invención, se proporciona un anticuerpo de acuerdo con la invención descrita en la presente memoria y que comprende una región de dominio constante de modo que el anticuerpo tiene una funcionalidad efectora o activación de complemento y/o ADCC reducida. En una realización de este tipo el dominio constante puede comprender una región constante naturalmente inutilizada de isotipo IgG2 o IgG4 o un dominio constante de IgG1 mutado. Se describen ejemplos de modificaciones adecuadas en el documento EP0307434. Un ejemplo comprende las sustituciones de restos de alanina en las posiciones 235 y 237 (numeración de índice EU). En una realización, un anticuerpo de este tipo comprende la cadena pesada de la SEC ID N°: 158.

En una realización, la proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma comprende un dominio V_H de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 76, 80, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 136, 138, 140, 142 y 144.

En una realización, la proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma comprende un dominio V_L de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos

seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 78, 82, 130, 132, 134 y 146.

En una realización, la proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma comprende un dominio V_H de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 76, 80, 116, 118, 120, 122, 124, 126,
5 128, 136, 138, 140, 142 y 144 y un dominio V_L que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 78, 82, 130, 132, 134 y 146.

En una realización, la proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma comprende un dominio V_H de anticuerpo que comprende la SEC ID N°: 76 y un dominio V_L
10 que comprende la SEC ID N°: 78.

En una realización, la proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma comprende un dominio V_H de anticuerpo que comprende la SEC ID N°: 80 y un dominio V_L que comprende la SEC ID N°: 82.

En una realización, la proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma comprende un dominio V_H de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 116, 118, 120, 122, 124, 126 y 128 y
15 un dominio V_L que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 130, 132 y 134.

En una realización, la proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma comprende un dominio V_H de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 136, 138, 140, 142 y 144 y un
20 dominio V_L que comprende la SEC ID N°: 146.

En una realización, la proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma comprende una cadena pesada de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 68, 72, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 104,
25 106, 108, 110, 112 y 158.

En una realización, la proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma comprende una cadena ligera de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionado del grupo que consiste en las SEC ID N°: 70, 74, 98, 100, 102 y 114.

En una realización, la proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma comprende un cadena pesada de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 68, 72, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 104,
30 106, 108, 110, 112 y 158 y una cadena ligera de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consisten en las SEC ID N°: 70, 74, 98, 100, 102 y
35 114.

En una realización, la proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma comprende un cadena pesada de anticuerpo que comprende la SEC ID N°: 68 y una cadena ligera de anticuerpo que comprende la SEC ID N°: 70.

5 En una realización, la proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma comprende un cadena pesada de anticuerpo que comprende la SEC ID N°: 72 y una cadena ligera de anticuerpo que comprende la SEC ID N°: 74.

En una realización, la proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma comprende un cadena pesada de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 84, 86, 88, 90, 92, 94 y 96 y una
10 cadena ligera de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 98, 100 y 102.

En una realización, la proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma comprende una cadena pesada de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 104, 106, 108, 110, 112 y 158 y una
15 cadena ligera de anticuerpo que comprende la SEC ID N°: 114.

Otro aspecto de la invención incluye un anticuerpo que compite por la unión a ADAMTS5 con uno cualquiera de los anticuerpos enumerados en la Tabla 3. Éstos incluyen los anticuerpos 1G10.1C9, 2D3.1D4, 3A12.1D7, 5F10.1H6, 11F12.1D12, 12F4.1H7 y 7B4.1E11.

20 En otra realización más, la proteína de unión a antígeno comprende además un segundo dominio variable de inmunoglobulina capaz de unirse a un segundo antígeno. El segundo dominio variable de inmunoglobulina puede unirse a un antígeno que puede actuar como vehículo tras la administración del péptido de unión a antígeno. Por ejemplo, el segundo dominio variable de inmunoglobulina puede unirse a una proteína de la sangre tal como, pero sin limitación, albúmina sérica humana o transferrina. Además, el segundo
25 dominio variable de inmunoglobulina puede unirse a un antígeno asociado con la modulación del dolor en un mamífero, tal como, pero sin limitación, factor de crecimiento nervioso (NGF), péptido intestinal vasoactivo (VIP) y/o TRPV1 u otro receptor vaniloide. Además, el segundo dominio variable de inmunoglobulina puede unirse a una citocina o
30 receptor de citocina asociado con una respuesta inflamatoria y/o una enfermedad autoinmune tal como, pero sin limitación, oncostatina M (OSM), TNF- α , IL-6, TRPV4, RANK1, y IL-1. El segundo antígeno también puede unirse a una segunda agreganasa, tal como, pero sin limitación, ADAMTS4 y/o ADAMTS5 y/o un segundo epítipo en ADAMTS5 y/o varias metaloproteasas tales como, pero sin limitación, MMP-13. El segundo dominio variable de
35 inmunoglobulina también puede unirse a un agregcano, colágeno II, proteoglicano u otras

moléculas asociadas con cartílago. En un aspecto de la presente invención, el segundo dominio variable de inmunoglobulina se une a un antígeno seleccionado del grupo de: albúmina sérica humana, ADAMTS4, NGF, OSM, TNF- α , IL-6, VIP, TRPV1, TRPV4, ADAMTS1, agrecano, Colágeno II, RANKL y/o IL-1.

- 5 Delgado, et al. *Nature Med.* 7, 563-568 describen que el tratamiento con VIP suprime la producción de mediadores proinflamatorios, así como la expresión de la metaloproteinasa gelatinasa (MMP-2). Se cree que la MMP-2 contribuye a la destrucción articular en patas de ratones artríticos. Los estudios *in vitro* indican que el VIP puede actuar directamente sobre los sinoviocitos, aunque una acción indirecta también podría estar
- 10 mediada por una producción aumentada de citocinas Th2. No obstante, el VIP parece afectar a la función sinovial a múltiples niveles en el modelo de ratón CIA. El péptido suprime la función de Th1 pero aumenta la función de Th2, "recuilibrando" posiblemente el sistema inmune. Además, el VIP tiene efectos directos e indirectos sobre macrófagos y sinoviocitos, conduciendo a una expresión disminuida de IL-1, TNF- α , quimiocinas y enzimas de
- 15 degradación de la matriz, protegiendo la integridad de la articulación. Firestein *Nature Medicine* 7, 537-538 (2001).

El péptido intestinal vasoactivo (VIP) se identificó en el líquido sinovial de pacientes con artritis hace casi 20 años y el objetivo de este estudio era examinar si el VIP podía estar implicado en la generación del dolor por OA. Se usó la carga de peso de la extremidad

20 posterior como medida del dolor articular, mientras que la algometría con pelo de von Frey aplicada a la superficie plantar de la pata trasera ipsilateral sirvió de ensayo para la hiperalgesia mecánica secundaria. La inyección intraarticular de VIP en articulaciones de rodilla de rata normal causaba un cambio significativo en la carga de peso a favor de la extremidad posterior no inyectada contralateral, causando también una reducción en el

25 umbral de retirada de la pata ipsilateral. Estas respuestas al dolor se bloquearon por coadministración de un antagonista de receptor VPAC. Los antagonistas que inhiben la actividad de VIP pueden demostrar ser beneficiosos en el alivio del dolor por OA. McDougall, et al. *Pain* 2006 Jul; 123(1-2): 98-105.

El factor de crecimiento nervioso (NGF) fue la primera neurotrofina que se

30 identificó y su papel en el desarrollo y supervivencia de neuronas tanto centrales como periféricas se ha caracterizado bien. Se ha demostrado que el NGF es un factor de mantenimiento y supervivencia crítico en el desarrollo de neuronas sensitivas embrionarias y simpáticas periféricas y de neuronas colinérgicas prosencefálicas basales. Smeyne et al., *Nature* 368: 246-249 (1994) y Crowley et al., *Cell* 76: 1001-1011 (1994). El NGF regula

35 positivamente la expresión de neuropéptidos en neuronas sensitivas (Lindsay y Harmer,

Nature 337: 362-364 (1989)) y su actividad está mediada por dos receptores unidos a membrana diferentes, el receptor TrkA y el receptor de neurotrofina común p75 (a veces denominados receptores de NGF de “alta afinidad” y “baja afinidad”, respectivamente). Chao et al., *Science* 232: 518-521 (1986). Para una revisión sobre el NGF, véase Huang et al., *Annu. Rev. Neurosci.* 24: 677-736 (2001); Bibel et al., *Genes Dev.* 14: 2919-2937 (2000). La estructura cristalina del NGF y del NGF en complejo con el receptor trkA se ha determinado. Véase *Nature* 254: 411 (1991); *Nature* 401: 184-188 (1996).

La oncostatina M es una glicoproteína de 28 KDa que pertenece a la familia de citocinas de la interleucina 6 (IL-6), que incluye IL-6, Factor Inhibidor de Leucemia (ILF), factor neurotrófico ciliar (CNTF), cardiotropina-1 (CT-1) y citocina similar a cardiotropina-1 (Véase Kishimoto T et al (1995) *Blood* 86: 1243-1254), que comparte el receptor de señalización transmembrana gp130 (Véase Taga T y Kishimoto T (1997) *Annu. Rev. Immunol.* 15: 797-819). La OSM se descubrió originariamente por su capacidad para inhibir el crecimiento de la línea celular de melanoma A375 (Véase Malik N (1989) et al *Mol Cell Biol* 9: 2847-2853). Posteriormente, se descubrieron más efectos y se descubrió que era un mediador multifuncional como otros miembros de la familia de IL-6. La OSM se produce en una diversidad de tipos celulares incluyendo macrófagos, células T activadas (Véase, Zarling JM (1986) *PNAS (USA)* 83: 9739-9743), neutrófilos polimorfonucleares (Véase, Grenier A et al (1999) *Blood* 93: 1413-1421), eosinófilos (Véase, Tamura S et al (2002) *Dev. Dyn.* 225: 327-31), células dendríticas (Véase, Suda T et al (2002) *Cytokine* 17: 335-340). También se expresa en páncreas, riñón, testículos, bazo, estómago y cerebro (Véase, Znoyko I et al (2005) *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 283: 182-186) y médula ósea (Véase, Psenak O et al (2003) *Acta Haematol* 109: 68-75). Sus efectos biológicos principales incluyen la activación del endotelio (Véase, Brown TJ et al (1993) *Blood* 82: 33-7), la activación de la respuesta de fase aguda (Véase, Benigni F et al (1996) *Blood* 87: 1851-1854), la inducción de la proliferación o diferenciación celular, la modulación de la liberación de mediadores inflamatorios y la hematopoyesis (Véase, Tanaka M et al (2003) 102: 3154-3162), la remodelación del hueso (Véase, de Hooge ASK (2002) *Am J Pathol* 160: 1733-1743) y la estimulación de la angiogénesis (Véase, Vasse M et al (1999) *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:1835-1842) y la cicatrización de heridas.

La citocina conocida como factor de necrosis tumoral α (TNF α ; también denominada caquectina) es una proteína secretada principalmente por monocitos y macrófagos en respuesta a endotoxina u otros estímulos como un homotrímero soluble de subunidades proteicas de 17 kD (Smith, R. A. et al., *J. Biol. Chem.* 262: 6951-6954 (1987)). También se ha descrito una forma precursora unida a membrana de 26 kD de TNF (Kriegler,

M. et al., Cell 53: 45-53 (1988)).

Las pruebas acumuladas indican que TNF es una citocina reguladora con actividades biológicas pleiotrópicas. Estas actividades incluyen: inhibición de la síntesis de lipoproteína lipasa (actividad de "caquectina") (Beutler, B. et al., Nature 316: 552 (1985)), activación de leucocitos polimorfonucleares (Klebanoff, S. J. et al., J. Immunol. 136: 4220 (1986); Perussia, B., et al., J. Immunol. 138: 765 (1987)), inhibición del crecimiento celular o estimulación del crecimiento celular (Vilcek, J. et al., J. Exp. Med. 163: 632 (1986); Sugarman, B. J. et al., Science 230:943 (1985); Lachman, L. B. et al., J. Immunol. 138: 2913 (1987)), acción citotóxica sobre ciertos tipos celulares transformados (Lachman, L. B. et al., anteriormente; Darzynkiewicz, Z. et al., Canc. Res. 44: 83 (1984)), actividad antiviral (Kohase, M. et al., Cell 45: 659 (1986); Wong, G. H. W. et al., Nature 323: 819 (1986)), estimulación de la resorción ósea (Bertolini, D. R. et al., Nature 319: 516 (1986); Saklatvala, J., Nature 322: 547 (1986)), estimulación de la producción de colagenasa y prostaglandina E2 (Dayer, J.-M. et al., J. Exp. Med. 162: 2163 (1985)); y acciones inmunorreguladoras, incluyendo la activación de células T (Yokota, S. et al., J. Immunol. 140: 531 (1988)), células B (Kehrl, J. H. et al., J. Exp. Med. 166: 786 (1987)), monocitos (Philip, R. et al., Nature 323: 86 (1986)), timocitos (Ranges, G. E. et al., J. Exp. Med. 167: 1472 (1988)) y estimulación de la expresión en superficie celular de moléculas de complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase I y clase II (Collins, T. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 446 (1986); Pujol-Borrel, R. et al., Nature 326: 304 (1987)).

La interleucina-6 (IL-6) es una glicoproteína secretada de 22 a 27 kDa que presenta actividades proinflamatorias y estimulantes del crecimiento. La IL-6 también se conoce como interferón- β 2 (IFN- β 2), proteína de 26-kDa inducible IL-1, factor estimulante de hepatocitos, factor de diferenciación de células T citotóxicas y factor estimulante de células B. (Trikha et al., Clin. Cancer Res. 9: 4653-4665 (2003)). La IL-6 se secreta por diversos tipos celulares. La IL-6 ejerce sus actividades por medio de la unión a un complejo receptor de alta afinidad que consiste en dos glicoproteínas de membrana: un receptor componente de 80 kDa que se une a IL-6 con baja afinidad (IL-6R) y un componente transductor de señal de 130 kDa (gp130) que no se une a IL-6 por sí mismo, pero que es necesario para una alta afinidad de unión de IL-6 por el complejo. El IL-6R puede escindirse mediante una metaloproteínasa transmembrana para dar el IL-6R soluble.

RANK es un miembro de la superfamilia de receptores de TNF; se parece más a CD40 en la región extracelular. De forma similar a CD40, RANK se asocia con TRAF2 y TRAF3 (según se determina por ensayos de coimmunoprecipitación sustancialmente como se describe por Rothe et al., Cell 83: 1243, 1995). Los TRAF son críticamente importantes en la

(17)

regulación de la respuesta inflamatoria e inmune. Por medio de su asociación con diversos miembros de la superfamilia de receptores de TNF, se transduce una señal a una célula. Esa señal da como resultado la proliferación, diferenciación o apoptosis de la célula, dependiendo de qué receptor o receptores se desencadenen y qué TRAF se asocie con el receptor o receptores. Pueden transducirse diferentes señales a una célula por medio de coordinación de diversos acontecimientos de señalización. Por lo tanto, una señal transducida por medio de un miembro de esta familia puede ser proliferativa, de diferenciación o apoptótica, dependiendo de otras señales que se estén transduciendo a la célula y/o del estado de diferenciación de la célula. Dicha regulación exquisita de esta ruta proliferativa/apoptótica es necesaria para desarrollar y mantener una protección frente a patógenos; desequilibrios pueden dar como resultado una enfermedad autoinmune.

RANK se expresa en células epiteliales, algunas líneas de células B y en células T activadas. Sin embargo, su expresión en células T activadas es tardía, aproximadamente cuatro días después de la activación. Este curso de tiempo de expresión coincide con la expresión de Fas, un agente de apoptosis conocido. RANK puede actuar como una señal antiapoptótica, rescatando a las células que expresen RANK de la apoptosis como se sabe que hace CD40. Como alternativa, RANK puede confirmar una señal apoptótica en las circunstancias apropiadas, de nuevo de forma similar a CD40. RANK y su ligando es probable que desempeñen un papel integral en la regulación de la respuesta inmune e inflamatoria.

El ligando, que se denomina RANKL, es una proteína transmembrana Tipo 2 con un dominio intracelular de menos de aproximadamente 50 aminoácidos, un dominio transmembrana y un dominio extracelular de aproximadamente 240 a 250 aminoácidos. De forma similar a otros miembros de la familia de TNF a la que pertenece, RANKL tiene una región "espaciadora" entre el dominio transmembrana y el dominio de unión a receptor que no es necesaria para la unión del receptor. Por consiguiente, las formas solubles de RANKL pueden comprender el dominio extracelular completo o fragmentos del mismo que incluyen la región de unión al receptor.

El receptor de canal TRPV4 es uno de seis miembros conocidos de la familia vaniloide de canales receptores de potencial transitorio y comparte una identidad de 51% a nivel de nucleótidos con TRPV1, el receptor de capsaicina. Pueden encontrarse ejemplos de polipéptidos y polinucleótidos que codifican formas de receptores vaniloides humanos, incluyendo el receptor de canal TRPV4 de seres humanos, en el documento EP 1170365 así como en el documento WO 00/32766. Como los otros miembros de la familia, el receptor de canal TRPV4 es un canal catiónico dependiente de ligando no selectivo permeable de Ca^{2+}

que es sensible a diversos estímulos tales como una osmolaridad reducida, una temperatura elevada y pequeños ligandos moleculares. Véase, por ejemplo, Voets, et al., J. Biol. Chem. (2002) 277: 33704-47051; Watanabe, et al., J. Biol. Chem. (2002) 277: 47044-47051; Watanabe, et al., J. Biol. Chem. (2002) 277: 13569-47051; Xu, et al., J. Biol. Chem. (2003) 278: 11520-11527. A partir de una exploración de tejidos corporales, el receptor de canal TRPV4 humano se expresa más prominentemente en cartílago. Una exploración de cultivo de células clonales y primarias muestra una expresión significativa solamente en condrocitos.

Dichas respuestas también se provocan por análogos estructurales de la capsaicina, que comparten un resto vaniloide común. Un análogo de este tipo es la resiniferatoxina (RTX), un producto natural de plantas Euphorbia. El término de receptor vaniloide (VR) se acuñó para describir el sitio de reconocimiento de la membrana neuronal para la capsaicina y dichos compuestos irritantes relacionados. La respuesta de la capsaicina se inhibe competitivamente y (por lo tanto se antagoniza) por otro análogo de la capsaicina, la capsazepina, y también se inhibe por el bloqueante de canales catiónicos no selectivo rojo de rutenio. Estos antagonistas se unen a VR con una afinidad no más que moderada (típicamente con valores de K_i de no más de 140 μ M).

Recientemente, se clonaron receptores de rata y humanos para capsaicina a partir de células de los ganglios de las raíces dorsales. Dichos receptores también se han denominado VR1 y las expresiones "VR1" y "receptor de capsaicina" se usan indistintamente en la presente memoria para referirse a receptores de rata y/o humano de este tipo, así como a homólogos de mamíferos. El papel de VR1 en la sensación dolorosa se ha confirmado usando ratones que carecen de este receptor, que no presentan comportamiento doloroso provocado por vaniloide y que presentan respuestas alteradas al calor y a la inflamación. El receptor de capsaicina es un canal catiónico no selectivo con un umbral para su apertura que se disminuye en respuesta de temperaturas elevadas, bajo pH y agonistas del receptor de capsaicina. Por ejemplo, el canal se abre habitualmente a temperaturas superiores a aproximadamente 45°C. La apertura del canal receptor de capsaicina viene seguida generalmente de la liberación de péptidos inflamatorios de neuronas que expresan el receptor y otras neuronas cercanas, aumentando la respuesta dolorosa. Después de la activación inicial por capsaicina, el receptor de capsaicina experimenta una desensibilización rápida por medio de la fosforilación por proteína quinasa dependiente de AMPc.

La proteína de unión a antígeno de la presente invención puede caracterizarse por una constante de disociación igual o menor a aproximadamente $9,0 \times 10^{-9}$ M para ADAMTS5 humana, en algunos casos es menor de o igual a aproximadamente $2,5 \times 10^{-10}$ M. La afinidad de proteína de unión a antígeno por una diana tal como la ADAMTS5 humana

puede medirse por resonancia de plasmón superficial, tal como, pero sin limitación, BIACORE u Octet. El análisis cinético BIAcore puede usarse para determinar las velocidades de asociación y disociación de la unión de anticuerpos o fragmentos de los mismos a un antígeno ADAMTS5. El análisis cinético BIAcore comprende analizar la unión
5 y la disociación de un antígeno ADAMTS5 de microplacas con anticuerpos inmovilizados o fragmentos de los mismos en su superficie (véase la sección de Ejemplos a continuación).

La presente mención también proporciona proteínas de unión a antígeno que bloquean y/o reducen al menos una actividad de ADAMTS5. En algunos casos, las proteínas de unión a antígeno de la presente invención bloquean y/o reducen la escisión de aggrecano por
10 ADAMTS5 en el sitio de escisión Glu³⁷³-Ala³⁷⁴. En algunos aspectos, las proteínas de unión a antígeno de la presente invención son capaces de penetrar en el cartílago, incluso cuando se administran por una vía de administración no articular. Por ejemplo, las proteínas de unión a antígeno de la presente invención pueden administrarse por vía intravenosa, por vía intramuscular, por vía oral, intranasal y/o por administración peritoneal.

15 También se proporcionan en la presente invención polinucleótidos aislados que codifican una proteína de unión a antígeno de esta invención.

En una realización, el polinucleótido aislado codifica una proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma que comprende un dominio V_H de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID
20 N°: 76, 80, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 136, 138, 140, 142 y 144. En una realización, el polinucleótido aislado se selecciona del grupo que consiste en las SEC ID N°: 75, 79, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 135, 137, 139, 141, 143 y 159. En una realización, el polipéptido es un anticuerpo producido a partir de una célula que expresa un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en las SEC ID N°: 5, 79, 115, 117, 119, 121, 123, 125,
25 127, 135, 137, 139, 141, 143 y 159.

En una realización, el polinucleótido aislado codifica una proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma que comprende un dominio V_L de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID
30 N°: 78, 82, 130, 132, 134 y 146. En una realización, el polinucleótido aislado se selecciona del grupo que consiste en las SEC ID N°: 77, 81, 129, 131, 133 y 145. En una realización, el polipéptido es un anticuerpo producido a partir de una célula que expresa un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en las SEC ID N°: 77, 81, 129, 131, 133 y 145.

En una realización, el polinucleótido aislado codifica una proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma que comprende una cadena pesada de anticuerpo que
35 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID

Nº: 68, 72, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 104, 106, 108, 110, 112 y 158. En una realización, el polinucleótido aislado se selecciona del grupo que consiste en las SEC ID Nº: 67, 71, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 103, 105, 107, 109, 111 y 159. En una realización, el polipéptido es un anticuerpo producido a partir de una célula que expresa un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en las SEC ID Nº: 67, 71, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 103, 105, 107, 109, 111 y 159.

En una realización, el polinucleótido aislado codifica una proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma que comprende una cadena ligera de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID Nº: 70, 74, 98, 100, 102 y 114. En una realización, el polinucleótido aislado se selecciona del grupo que consiste en las SEC ID Nº: 69, 73, 97, 99, 101 y 115. En una realización, el polipéptido es un anticuerpo producido a partir de una célula que expresa un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en las SEC ID Nº: 69, 73, 97, 99, 101 y 115.

También se proporcionan células hospedadoras que comprenden los polinucleótidos que codifican las proteínas de unión a antígeno de la presente invención y métodos de expresión de las proteínas de unión a antígeno de dichas células hospedadoras. Además, se proporcionan métodos para generar las proteínas de unión a antígeno de la presente invención.

Los métodos de generación de vectores, células hospedadoras y anticuerpos de la presente invención incluyen el uso de vectores de expresión convencionales o plásmidos recombinantes producidos por colocación de secuencias codificantes para el anticuerpo en asociación operativa con secuencias de control reguladoras convencionales capaces de controlar la replicación y la expresión en, y/o la secreción de una célula hospedadora. Las secuencias reguladoras incluyen secuencias promotoras, por ejemplo, promotor de CMV, y secuencias señal que pueden proceder de otros anticuerpos conocidos. De forma similar, puede producirse un segundo vector de expresión que tenga una secuencia de ADN que codifique una cadena pesada o ligera de anticuerpo complementaria. Preferiblemente, este segundo vector de expresión es idéntico al primero excepto en la medida que concierne a las secuencias codificantes y marcadores de selección, para asegurar tanto como sea posible que cada cadena polipeptídica se exprese funcionalmente. Como alternativa, las secuencias codificantes de cadena ligera y pesada para el anticuerpo modificado pueden residir en un solo vector.

Una célula hospedadora seleccionada se cotransfecta por técnicas convencionales con tanto con el primer como el segundo vector (o simplemente se transfecta por un solo vector) para generar la célula hospedadora transfectada de la invención que comprende

ambas cadenas ligera y pesada recombinantes o sintéticas. La célula transfectada se cultiva después por técnicas convencionales para producir el anticuerpo modificado por ingeniería genética de la invención. El anticuerpo que incluye la asociación de tanto la cadena ligera como la cadena pesada recombinante, se explora a partir del cultivo mediante un ensayo apropiado, tal como ELISA o RIA. Pueden emplearse técnicas convencionales similares para construir otros anticuerpos y moléculas modificadas.

Los vectores adecuados para las etapas de clonación y subclonación empleados en los métodos y en la construcción de las composiciones de esta invención pueden seleccionarse por un experto en la materia. Por ejemplo, puede usarse la serie pUC convencional de vectores de clonación. Un vector, pUC19, está disponible en el mercado de proveedores comerciales, tales como Amersham (Buckinghamshire, Reino Unido) o Pharmacia (Uppsala, Suecia). Además, cualquier vector que sea capaz de replicarse fácilmente, que tenga una abundancia de sitios de clonación y genes de selección (por ejemplo, resistencia a antibióticos) y que se manipule fácilmente pueden usarse para la clonación. Por lo tanto, la selección del vector de clonación no es un factor limitante en esta invención.

De forma similar, los vectores empleados para la expresión de los anticuerpos pueden seleccionarse por un experto en la materia de cualquier vector convencional. Los vectores también contienen secuencias reguladoras seleccionadas (tales como promotores CMV o RSV) que dirigen la replicación y la expresión de secuencias de ADN heterólogas en células hospedadoras seleccionadas. Estos vectores contienen las secuencias de ADN descritas anteriormente que codifican el anticuerpo o la región codificante de inmunoglobulina modificada. Además, los vectores pueden incorporar las secuencias de inmunoglobulina seleccionadas modificadas por inserción de sitios de restricción dscables para una manipulación sencilla.

Los vectores de expresión también pueden caracterizarse por genes adecuados para amplificar la expresión de las secuencias de ADN heterólogas, por ejemplo, el gen de la dihidrofolato reductasa de mamífero (DHFR). Otras secuencias de vector preferibles incluyen una secuencia señal poli A, tal como de la hormona de crecimiento bovina (BGH) y la secuencia promotora de betaglobina (betaglopro). Los vectores de expresión útiles en la presente memoria pueden sintetizarse por técnicas bien conocidas por los expertos en la materia.

Los componentes de dichos vectores por ejemplo, replicones, genes de selección, potenciadores, promotores, secuencias señal y similares, pueden obtenerse a partir de fuentes naturales o comerciales o sintetizarse por procedimientos conocidos para su uso en la

dirección de la expresión y/o secreción del producto de ADN recombinante en un hospedador seleccionado. Otros vectores de expresión apropiados de los que se conocen numerosos tipos en la técnica para expresión en mamíferos, bacterias, insectos, levaduras y hongos también pueden seleccionarse con este fin.

5 La presente invención también incluye una línea celular transfectada con un plásmido recombinante que contiene las secuencias codificantes de los anticuerpos o moléculas de inmunoglobulina modificadas de los mismos. Las células hospedadoras útiles para la clonación y otras manipulaciones de estos vectores de clonación también son convencionales. Sin embargo, de forma más deseable, se usan células de diversas cepas de *E.*
10 *coli* para la replicación de los vectores de clonación y otras etapas en la construcción de anticuerpos modificados de esta invención.

Las células o líneas celulares hospedadoras adecuadas para la expresión del anticuerpo de la invención son preferiblemente células de mamífero tales como NS0, Sp2/0, CHO (por ejemplo, DG44), COS, una célula fibroblástica (por ejemplo, 3T3) y células de
15 mieloma, y más preferiblemente una célula CHO o de mieloma. Pueden usarse células humanas, permitiendo por lo tanto que la molécula se modifique con patrones de glicosilación humanos. Como alternativa, pueden emplearse otras líneas celulares eucariotas. La selección de células hospedadoras de mamífero adecuadas y métodos para la transformación, cultivo, amplificación, exploración y producción y purificación de productos
20 se conocen en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook et al., citado anteriormente.

Las células bacterianas pueden demostrar utilidad como células hospedadoras adecuadas para la expresión de los Fab recombinantes de la presente invención (véase, por ejemplo, Plückthun, Un., Immunol. Rev., 130: 151-188 (1992)). Sin embargo, debido a la
25 tendencia de proteínas expresadas en células bacterianas a estar en una forma no plegada o plegada de forma inapropiada o en una forma no glicosilada, cualquier Fab recombinante producido en una célula bacteriana tendría que explorarse para determinar la retención de la capacidad de unión a antígeno. Si la molécula expresada por la célula bacteriana se producía en una forma plegada apropiadamente, esa célula bacteriana sería un hospedador deseable. Por ejemplo, diversas cepas de *E. coli* usadas para la expresión son bien conocidas como
30 células hospedadoras en el campo de la biotecnología. Diversas cepas de *B. subtilis*, *Streptomyces*, otros bacilos y similares también pueden emplearse en este método.

Cuando se desee, también están disponibles cepas de células de levadura conocidas por los expertos en la materia como células hospedadoras, así como células de insecto, por ejemplo, de *Drosophila* y *Lepidópteros* y sistemas de expresión virales. Véase, por ejemplo,
35 Miller et al., Genetic Engineering, 8: 277-298, Plenum Press (1986) y referencias citadas en

el mismo.

Los métodos generales por los que pueden construirse los vectores, los métodos de transición necesarios para producir las células hospedadoras de la invención y los métodos de cultivo necesarios para producir el anticuerpo de la invención a partir de dicha célula
5 hospedadora son todas técnicas convencionales. Típicamente, el método de cultivo de la presente invención es un método de cultivo sin suero, habitualmente por cultivo de células sin suero en suspensión. Asimismo, una vez producidos, los anticuerpos de la invención pueden purificarse a partir del contenido del cultivo celular de acuerdo con procedimientos convencionales en la técnica incluyendo precipitación con sulfato de amonio, columnas de
10 afinidad, cromatografía en columna, electroforesis en gel y similares. Dichos procedimientos se incluyen en la especialidad en la técnica y no limitan esta invención. Por ejemplo, la preparación de anticuerpos modificados se describe en los documentos WO 99/58679 y WO 96/16990.

Otro método más de expresión de los anticuerpos puede utilizar la expresión en un
15 animal transgénico, tal como se describe en la Patente de Estados Unidos Nº 4.873.316. Esto se refiere a un sistema de expresión que usa el promotor de caseína de animales, que cuando se incorpora transgénicamente en un mamífero permite a la hembra producir la proteína recombinante deseada en su leche.

En un aspecto adicional de la invención se proporciona un método de producción de
20 un anticuerpo de la invención, comprendiendo dicho método la etapa de cultivar una célula hospedadora transformada o transfectada con un vector que codifica la cadena pesada y/o ligera del anticuerpo de la invención y recuperar el anticuerpo producido por la misma.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método de inhibición de la actividad de ADAMTS5 proporcionando una molécula que se une simultáneamente a ambos
25 dominios catalítico y desintegrina. El modelado informático de la estructura de 'mejor ajuste' ("best fit") mediante simulación por ordenador usando estructuras cristalinas separadas para la ADAMTS5 y el mAb de ADAMTS5 12F4.1H7 sugiere interacciones de antígeno/anticuerpo simultáneas entre ambos dominios catalítico y desintegrina de ADAMTS5. Los dominios catalítico y desintegrina de las proteasas ADAM y ADAMTS
30 están separados por una región bisagra que confiere flexibilidad entre los dominios que puede actuar regulando la función o permitiendo la localización de sustrato en el sitio catalítico. La unión de mAb de alta afinidad observada en este dominio que abarca el epítipo probablemente 'bloquea' los dominios catalítico y desintegrina de ADAMTS5 a la vez, neutralizando de este modo la actividad enzimática. En una realización, la molécula es un
35 anticuerpo que se une a ambos dominios desintegrina y catalítico simultáneamente. En otra

realización, la molécula es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de la presente invención.

En otra realización de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden al menos una de las proteínas de unión a antígeno descritas en la presente memoria. La invención actual también proporciona el uso de al menos una proteína de unión a antígeno a ADAMTS5 en la fabricación de un medicamento para reducir al menos una actividad de ADAMTS5 en un ser humano. La presente invención proporciona el uso de al menos una proteína de unión a antígeno a ADAMTS5 para reducir al menos una actividad de ADAMTS5 en un ser humano que comprende administrar a un paciente que lo necesite una composición que comprende al menos una proteína de unión a antígeno a ADAMTS5.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender además una segunda proteína de unión a antígeno. En algún caso, la segunda proteína de unión a antígeno puede ser un anticuerpo monoclonal. En una realización, el segundo anticuerpo monoclonal se une a al menos un antígeno seleccionado del grupo de ADAMTS4, ADAMTS5, NGF, OSM, TNF- α , IL-6, VIP, TRPV1, TRPV4, ADAMTS1, Agrecano, Colágeno II, RANKL y/o IL-1. A modo de ejemplo, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender una primera proteína de unión a antígeno que puede ser un anticuerpo monoclonal contra ADAMTS5 y un segundo anticuerpo monoclonal que también puede unirse a ADAMTS5. A modo de otro ejemplo, una composición farmacéutica de la presente invención puede comprender una primera proteína de unión a antígeno que es un anticuerpo monoclonal que se une a ADAMTS5 y una segunda proteína de unión a antígeno que es un anticuerpo monoclonal que se une a uno de los siguientes: ADAMTS4, NGF, OSM, TNF- α , IL-6, VIP, TRPV1, TRPV4, ADAMTS1, Agrecano, Colágeno II, RANKL y/o IL-1.

También se proporcionan métodos de tratamiento de un paciente que lo necesite que comprenden administrar al menos una dosis de composición farmacéutica de la presente invención. En algunos aspectos, el paciente padece una enfermedad del cartílago. Un paciente puede padecer una o más enfermedades seleccionadas del grupo de: cáncer, dolor, dolor crónico, dolor neuropático, dolor postoperatorio, artrosis, lesiones deportivas, artritis erosiva, artritis reumatoide, artritis psoriásica, artritis de Lyme, artritis juvenil, neuralgia, neuropatías, algesia, lesión nerviosa, isquemia, neurodegeneración, enfermedades inflamatorias, degeneración cartilaginosa, enfermedades que afectan a la laringe, tráquea, canal auditivo, discos intervertebrales, ligamentos, tendones, cápsulas articulares o al desarrollo del hueso, degeneración de discos intervertebrales, osteopenia o enfermedades periodontales, lesión articular aguda y/o enfermedades relacionadas con la destrucción

articular. En algunos casos, el paciente padece artrosis.

En otra realización, la administración de al menos una dosis de dicha composición farmacéutica reduce la degradación de cartílago en dicho paciente. En otra realización, la administración de al menos una dosis de dicha composición farmacéutica inhibe y/o reduce la escisión de agregano en dicho paciente.

También se proporcionan en la presente memoria composiciones farmacéuticas capaces de tratar una enfermedad asociada con degradación de cartílago o aliviar los síntomas producidos por la misma y formuladas para los métodos y usos descritos en la presente memoria. La presente invención proporciona un anticuerpo de ADAMTS5 para su uso en el tratamiento de enfermedades del cartílago, para su administración en solitario o en combinación con al menos otro compuesto terapéutico, incluyendo, pero sin limitación, al menos un esteroide y/o analgésico. Las proteínas de unión a antígeno de la presente invención pueden coadministrarse con otros compuestos terapéuticos en la misma dosis o por separado. La presente invención también proporciona anticuerpos contra ADAMTS5 o fragmentos de los mismos para todos los métodos y usos descritos en la presente memoria.

Como se usa en la presente memoria, el término "paciente" se refiere a un ser humano u otro animal.

Como se usa en la presente memoria, el término "tratamiento" significa: (1) la mejoría o prevención de la afección que está tratando o una o más de las manifestaciones biológicas de la afección que está tratando, (2) la interferencia con (a) uno o más puntos en la cascada biológica que conduce a o es responsable de la afección que está tratando o (b) una o más de las manifestaciones biológicas de la afección que está tratando o (3) el alivio de uno o más de los síntomas o efectos asociados con la afección que está tratando. El especialista apreciará que la "prevención" no es un término absoluto. En medicina, el término "prevención" se entiende que se refiere a la administración profiláctica de un fármaco para disminuir sustancialmente la probabilidad o gravedad de una afección o manifestación biológica de la misma o para retrasar la aparición de dicha afección o manifestación biológica de la misma.

Como se usa en la presente memoria, una "cantidad segura y eficaz" se refiere a una cantidad de al menos una proteína de unión a antígeno suficiente para inducir significativamente una modificación positiva en la afección a tratar pero lo bastante reducida para evitar efectos secundarios graves (a una relación riesgo/beneficio razonable) dentro del alcance del buen juicio médico. Una cantidad segura y eficaz de al menos una proteína de unión a antígeno de la invención

variará con el compuesto particular seleccionado (por ejemplo, se considera a la potencia, eficacia y semivida del compuesto); la vía de administración elegida; la afección que esté tratando; la gravedad de la afección que esté tratando; la edad, tamaño, peso y estado físico del paciente que se esté tratando; la historia médica del paciente que se esté tratando; la duración del tratamiento; la naturaleza de la terapia concurrente; el efecto terapéutico deseado; y factores similares pero, no obstante, puede determinarse de forma rutinaria por el experto en la materia.

Las proteínas de unión a antígeno de la invención pueden administrarse por cualquier vía de administración adecuada, incluyendo tanto la administración sistémica como la administración tópica. La administración sistémica incluye la administración oral, administración parenteral, administración transdérmica, administración rectal y administración por inhalación. La administración parenteral se refiere a vías de administración distintas de la enteral, transdérmica o por inhalación y típicamente es por inyección o infusión. La administración parenteral incluye inyección o infusión intravenosa, intramuscular y subcutánea. La inhalación se refiere a la administración en los pulmones del paciente ya sea inhalado por la boca o por los orificios nasales. La administración tópica incluye la aplicación en la piel, así como la administración intraocular, ótica, intravaginal e intranasal.

Las proteínas de unión a antígeno de la invención pueden administrarse una vez o de acuerdo con un régimen de dosificación en el que se administran varias dosis a intervalos de tiempo variables durante un periodo de tiempo dado. Por ejemplo, las dosis pueden administrarse una, dos, tres o cuatro veces al día. La dosis pueden administrarse hasta que se consiga el efecto terapéutico deseado o indefinidamente para mantener el efecto terapéutico deseado. Los regímenes de dosificación adecuados para una proteína de unión a antígeno de la invención dependen de las propiedades farmacocinéticas de ese compuesto, tal como la absorción, distribución y semivida, que pueden determinarse por el experto en la materia. Además, los regímenes de dosificación adecuados, incluyendo la duración de dichos regímenes, se administran para un compuesto de la invención dependen de la afección que se trate, de la gravedad de la afección que se trate, de la edad y afección física del paciente que se trate, de la historia médica del paciente que se trate, de la naturaleza de la terapia concurrente, del efecto terapéutico deseado, y factores similares dentro del conocimiento y la experiencia del experto en la materia. Se entenderá además por dichos expertos en la materia que los regímenes de dosificación adecuados pueden requerir un ajuste dada la respuesta de un

paciente individual al régimen de dosificación o con el tiempo a medida que el paciente individual necesite un cambio.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo se usa para administrar un fármaco al cartilago. Dicho fármaco podría ser un inhibidor de agreganasa, un fármaco antiinflamatorio, un esteroide o un fármaco relacionado con el tratamiento del dolor. Por consiguiente, en un aspecto la invención es un método de administración de un fármaco a cartilago que comprende revestir con el fármaco un anticuerpo de la presente invención. Dicha administración puede realizarse *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*.

En otra realización, el anticuerpo se usa para administrar un factor de crecimiento al cartilago que promovería el crecimiento de nuevo cartilago. Dichos factores de crecimiento incluyen proteínas morfogénicas óseas, particularmente BMP-7. Dicha administración puede realizarse *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*.

Ejemplos

Los ejemplos siguientes ilustran diversos aspectos de esta invención.

Ejemplo 1 - Producción de Mab contra ADAMTS4 humana y ADAMTS5 humana

Se produjeron proteínas ADAMTS5 y ADAMTS4 humanas en células CHO transfectadas y/o células HEK293 transducidas BacMam y se aislaron por métodos de cromatografía convencionales.

Se coimmunizaron ratones SJL con ADAMTS4 purificada (longitud completa) y ADAMTS5 (truncada, de longitud completa, dominios Cat, Cat/dis). Se ensayó la inmunogenicidad en sueros de extracciones de sangre seriadas.

Se aislaron esplenocitos y ganglios linfáticos y se fusionaron a células de mieloma de ratón usando un compañero de fusión derivado de P3X63/Ag8.653. Se generaron células productoras de anticuerpo inmortalizadas. Se usó selección con IAT para deseleccionar las células de mieloma no fusionadas.

Se exploraron los sobrenadantes de hibridoma resultantes de cultivos activos para determinar su unión específica y su neutralización de ADAMTS5 y ADAMTS4 humanas recombinantes. Se identificaron los éxitos, se confirmaron y se clonaron hasta obtener monoclonales por dilución limitante o cultivo en medio semisólido.

Los anticuerpos monoclonales con las características deseadas se aumentaron a escala en cultivo líquido y el anticuerpo se purificó por métodos de cromatografía convencionales. Después, se caracterizaron adicionalmente los clones de anticuerpos purificados resultantes para determinar su afinidad de unión y su potencia funcional.

Ejemplo 2 - Caracterización de Anticuerpos Murinos

Se caracterizaron mAb contra ADAMTS5 mAb para determinar su potencia de neutralización usando ensayos de escisión de sustrato agrecano *in vitro* (Tabla 1). Se caracterizaron mAb contra ADAMTS5 para determinar su afinidad usando tecnologías tanto Octet QK (Tabla 1) como BiaCore (comparable, pero no se muestra). También se ensayaron anticuerpos para determinar su reactividad cruzada con ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS13, MMP1, MMP3, MMP9 y MMP13 humanas mediante celTRF y Octet QK, siendo todos negativos (no se muestra). Todos los mAbs se evaluaron también para determinar su reactividad cruzada con ortólogos por unión y neutralización contra ADAMTS5 de ratón, canina y mono cynomolgus (Tabla 1). También se detectó la unión contra ADAMTS5 de rata (no se muestra). Se resumen comparaciones de afinidad para formas murinas y quiméricas de mAb anti-ADAMTS5 humana en Octet QK en la Tabla 2.

Tabla 1: Caracterization de anticuerpos monoclonales anti-ADAMTS5 humana purificados.

mAb	Afinidad (Qctet QK)			Escisión de Sustrato Agrecano	Ortólogo de ADAMTS5 (Unión/Neutralización)		
	Ka	Kd	KD	Neutralización CI50 (nM)	Ratón	Cynomolgus	Canino
1G10.1C9	4,47E+04	8,43E-06	1,88E-10	0,375	(+/+)	(+/+)	(+/+)
2D3.1D4	6,67E+04	5,75E-06	8,62E-11	0,031	(+/+)	(+/+)	(+/+)
3A12.1D7	5,67E+04	4,67E-06	8,24E-11	0,769	(+/+)	(+/+)	(+/+)
5F10.1H6	5,53E+04	6,99E-06	1,26E-10	0,05	(+/+)	(+/+)	(+/+)
11F12.1D12	6,57E+04	4,33E-05	6,58E-10	2,527	(+/+)	(+/+)	(+/+)
12F4.1H7	3,31E+04	1,44E-05	4,36E-10	0,06	(+/+)	(+/+)	(+/+)
7B4.1E11	4,86E+04	4,36E-05	8,99E-10	0,08	(+/+)	(+/+)	(+/+)

Tabla 2: Comparación directa mAb anti-DAMTS5 humana murinos y quiméricos purificados

mAb	Afinidad (Qctet QK)		
	Ka	Kd	KD
12F4.1H7 Murino	5,64E+04	3,86E-06	6,85E-11
12F4.1H7 Quimérico	5,55E+04	4,43E-06	7,99E-11
7B4.1E11 Murino	7,65E+04	2,74E-05	3,58E-10
7B4.1E11 Quimérico	7,18E+04	2,47E-05	3,45E-10

Ejemplo 3 - Secuencias

Basándose en las características identificadas en el Ejemplo 2, se identificaron seis anticuerpos monoclonales. Las regiones variables de estos anticuerpos se secuenciaron. Los alineamientos se muestran a continuación (Tabla 3). Una región variable de cadena ligera y región variable de cadena pesada consenso (mayoría) están representadas por las SEC ID N°: 30 y 31 a continuación. Las regiones variables de cadena pesada para las denominaciones de

723

mAb 12F4.1H7, 1G10.1C9, 2D3.1D4, 3A12.1D7, 5F10.1H6 y 7B4.1E11 están representados por las SEC ID N°: 32-37, respectivamente, y codificadas por las SEC ID N°: 147, 157, 151, 153, 155 y 149, respectivamente. Las regiones variables de cadena ligera para las denominaciones de mAb 2D3.1D4, 3A12.1D7, 5F10.1H6, 7B4.1E11 y 12F4.1H7 están representados por las SEC ID N°: 38-42, respectivamente, y codificadas por las SEC ID N°: 152, 154, 156, 150 y 148, respectivamente.

Tabla 3: Alineamiento de secuencias de CDR de mAb anti-ADAMTS5

Alineamientos de CDR de V_H

		CDR H1			
10		EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWMDWVRQS Mayoria			
		-----+-----+-----+-----+			
		10 20 30 40			
		-----+-----+-----+-----+			
		I EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCTASGFTFS DAWMDWVRQS 12F4.1H7 VH.pro			
15		I EVKLEESGGGLGQPGGSMKLSCAASGFNFSDAWMDWVRQS 1G10.1C9 VH.pro			
		I EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGITFS DAWMDWVRQS 2D3.1D4 VH.pro			
		I EVKFEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFI FS DAWMDWVRQS 3A12.1D7 VH.pro			
		I EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWMDWVRQS 5F10.1H6 VH.pro			
		I EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTSSDAWMDWVRQS 7B4.1E11 VH.pro			
20					
		CDR H2			
		PEKGLEWVAEIRHKANDHAI FYXESVKGRFTISRDDSKSI Mayoria			
		-----+-----+-----+-----+			
		50 60 70 80			
		-----+-----+-----+-----+			
25		4I PEKGLEWVAEIRHKANDHAI FYDESVKGRFTISRDDSKNI 12F4.1H7 VH.pro			
		4I PEKGLEWVAEIRHKANDHAI FYAESVKGRFTISRDDSKSS 1G10.1C9 VH.pro			
		4I PEKGLEWVADIRNTANNHATFYAESVKGRFTISRDDSKST 2D3.1D4 VH.pro			
		4I PEKGLEWVAEIRHKANDYAI FYDESVKGRFTISRDDSKSI 3A12.1D7 VH.pro			
30		4I PEKGLEWVAEIRHKANDHAI FYDESVKGRFTISRDDSKSI 5F10.1H6 VH.pro			
		4I PEKGLEWVAEIRNKANNHARHYAESVKGRFTISRDDSKSS 7B4.1E11 VH.pro			
		CDR H3			
		VYLQMNSLRPEDTGIYYCTS PFAY-----WGQGTLVTVSA Mayoria			
35	(SEC ID N°: 30)				
		-----+-----+-----+-----+			
		90 100 110 120			
		-----+-----+-----+-----+			
		8I VYLQMNSLRPEDTGIYYCTS PFAY-----WGQGTLVTVSA 12F4.1H7 VH.pro			
40	(SEC ID N°: 32)				
		8I VYLQMNSLRAEDTGIYYCTS PFAY-----WGQGTLVTVSA 1G10.1C9 VH.pro			
	(SEC ID N°: 33)				
		8I VYLQMNTLRPEDTGIYYCTS PFAY-----WGQGTLVTVSA 2D3.1D4 VH.pro			
	(SEC ID N°: 34)				
45		8I VYLQMNNLRPEDTGIYYCTS PFAY-----WGQGTLVTVSA 3A12.1D7 VH.pro			
	(SEC ID N°: 35)				

8I VYLQMNSLRPEDTGIYYCTS PFAY----- WGQGTLVTVSA 5F10.1H6 VL.pro
 (SEC ID N°: 36)
 8I VYLQMNSLRAEDSGIYYCTRTRYYYGSSYGCDVWGTGTTVTVSS 7B4.1E11 VH.pro
 (SEC ID N°: 37)

5

Alineamientos de CDR de V_L

CDR L1

DIVMTQSQKFMSVTVGDRVSITCKASQSVGTTI V W Y Q Q K P

Mayoría

-----+-----+-----+-----+

10203040

-----+-----+-----+-----+

1 DIVMTQSQKFMSSTTVGDRVSITCKASQNVGTAVVWFQ Q K P

2D3.1D4 VL.pro

1 DIVMTQSQKFMSVTVGDRVSITCKASQSVGTTI V W Y Q Q K P

3A12.1D7 VL.pro

1 DIVMTQSQRFMSVTVGDRVSITCKASQSVGTTI V W Y Q Q K P

5F10.1H6 VL.pro

1 DIQMTQSPA SL SASVGETVTITCRT S ÈNI YSYLAWYQQKQ

7B4.1E11 VL.pro

1 DIVMTQSQKFMSVTVGDRVSITCKASQSVGTTI V W Y Q Q K P

12F4.1H7 VL.pro

CDR L2

GQSP KLL IYSASNRXTGVPDRFTGSGSGTDFILTINN V QS

Mayoría

-----+-----+-----+-----+

50607080

-----+-----+-----+-----+

4I GQSP KLL IYSASNRYTRVPDRFTGSGSGTDFLTISNVQS

2D3.1D4 VL.pro

4I GQSP KLL IYSASNRHTGVPDRFTGSGSGTDF ILTISNVQS

3A12.1D7 VL.pro

4I GQSP KLL IYSASTRYTGVDPDRFTGGGSGTDFILTINN V QS

5F10.1H6 VL.pro

4I GKSPQLLVYNAKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINS L Q P

7B4.1E11 VL.pro

4I GQSP KLL IYSASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFILTINN V QS

12F4.1H7 VL.pro

CDR L3

EDLADYFCQQYSSYPFTFGSGTKLEIK R A

Mayoría (SEC ID N°: 31)

-----+-----+-----

90100

-----+-----+-----

8I EDLADYFCQQYVNYPFTFGSGTKLEIKRA

2D3.1D4 VL.pro (SEC ID N°: 38)

8I EDLADYFCQQYS SYPFTFGSGTKLEIKRA

3A12.1D7 VL.pro (SEC ID N°: 39)

8I EDLADYFCQQYS SYPFTFGSGTKLEIKRA

5F10.1H6 VL.pro (SEC ID N°: 40)

8I EDFG SYSCQH HYGTPWTFGGGTKLEIKRA

7B4.1E11 VL.pro (SEC ID N°: 41)

8I EDLADYFCQQYTSYPFTFGSGTKLEIKRA

12F4.1H7 VL.pro (SEC ID N°: 42)

40
 Ejemplo 4 – Explante de Cartílago OA Humano

Se obtuvo cartílago OA humano de donante a partir de cirugías de reemplazo de rodilla. Se procesó el cartílago a partir del hueso y se cortó en discos de diámetro de 3 mm. Los discos se alcatorizaron y se cultivaron en placas de 96 pocillos. Se dejó que los factores de enfermedad endógenos en los tejidos evolucionaran para la degradación de cartílago *ex vivo*. Se trataron las muestras con lo siguiente: isotipo de IgG de control correspondiente, anticuerpos anti-ADAMTS5 seleccionados (denominados 7B4.1E11 y 12F4.1H7), un

124

anticuerpo anti-ADAMTS4 seleccionado (denominado 7E8.1E3) o un inhibidor de
agrecanasa/MMP conocido, mostrado como GSK571949 a continuación. Cada condición de
tratamiento se ensayó en múltiplos de 8 en cada placa donante. Se midió la inhibición de la
liberación de neoepítipo ARGSVIL (SEC ID N°: 1) para cada muestra en numerosos puntos
5 a lo largo del transcurso del experimento.

Como se ha descrito anteriormente, la escisión de agrecano por agrecanasa se
produce típicamente en una región conservada dentro del dominio interglobular del
agrecano. La escisión enzimática producirá un fragmento liberado que contiene un
neoepítipo con una secuencia de aminoácidos N-terminal (ARGSVIL) del agrecano. Este
10 neoepítipo de escisión puede detectarse y cuantificarse usando un anticuerpo monoclonal
que se une específicamente a las formas escindidas, pero no al agrecano intacto. Tanto los
anticuerpos contra ADAMTS5 como el inhibidor de ADAMTS5 mostraban una inhibición
significativamente superior de la liberación de ARGSVIL que el control y el anticuerpo
contra ADAMTS4. Un resumen del porcentaje de inhibición de la liberación de ARGSVIL
15 se muestra en la Figura 1. Los resultados demuestran que los mAbs específicos de
ADAMTS5 son capaces de inhibir la degradación en un índice de aproximadamente 70%
durante el periodo de evaluación de 2-3 semanas en comparación con un compuesto de
control de ensayo molecular pequeño. Estos resultados son uniformes dentro de y entre
muchas muestras de donantes individuales.

20 **Ejemplo 5 - Respuesta a la Dosis de Anticuerpo contra ADAMTS5 en Explante de Cartílago OA Humano**

Se ensayó el porcentaje de inhibición de la liberación de ARGSVIL como se
describe en el Ejemplo 4 para determinar la respuesta de la dosis de un anticuerpo anti-
ADAMTS5 seleccionado (véase la Figura 2). Se ensayó el anticuerpo murino 7B4.1E11 a las
25 dosis siguientes: 1340 nM, 670 nM, 335 nM, 81,25 nM. También se usó inhibidor de
agrecanasa/MMP de control. El porcentaje de liberación de ARGSVIL era inferior con las
mayores dosis de anti-ADAMTS5 y disminuía tras el tratamiento con dosis inferiores. Se
usaron dosis de tratamiento con anticuerpo de control de isotipo correspondiente (no se
muestra) para determinar la inhibición de 0% y se usó una sola dosis eficaz de GSK571949
30 para calcular la inhibición de 100%. Este tratamiento con mAb demuestra una respuesta a la
dosis que parece alcanzar un efecto máximo a la dosis de 670 nM (Figura 2). Sin embargo,
debería observarse que estaban representados más donantes ($n = 22$) en el punto de dosis de
670 nM mientras que las otras dosis incluían menos donantes ($n \leq 5$).

35 **Ejemplo 6 - Estudios *in vivo* de DMM**

Se indujo OA en ratones usando un modelo de Desestabilización de Menisco Medial

(DMM) para la evaluación de la eficacia de un anticuerpo anti-ADAMTS5 (véase la Figura 3). Se muestran dos experimentos separados. Tres días antes de la DMM quirúrgica, se administró a los ratones 0,5 mg/dosis de uno de los anticuerpos siguientes: anti-ADAMTS5 (7B4.1E11), anti-ADAMTS5 (12F4.1H7) o isotipo de IgG. Los grupos de control incluían ratones sin tratar con cirugía de DMM, ratones con una cirugía simulada y ratones normales. Seis días después de la dosificación, se sacrificaron los ratones y se realizó la histopatología por investigadores a ciegas a partir de lo cual se dio una puntuación articular a cada rodilla de ratón evaluada. Los anticuerpos anti-ADAMTS5 mostraron puntuaciones articulares medias significativamente mejores en comparación con el control de isotipo de IgG1. Además, las rodillas con cirugía simulada y las rodillas normales tenían puntuaciones articulares medias significativamente mejores en comparación con las rodillas sin tratar y tratadas con el isotipo de IgG.

Ejemplo 7 - Los anticuerpos monoclonales penetran en el cartílago *in vitro* e *in vivo*

La capacidad de los anticuerpos terapéuticos para penetrar en el tejido y alcanzar el sitio en la enfermedad y su diana específica es típica para su eficacia. Las agrecanasas, aunque clasificadas como proteínas secretadas, se ha demostrado que se localizan preferentemente en las regiones pericelulares de los condrocitos dentro de la matriz de cartílago. Por lo tanto, para que un mAb terapéutico alcance una diana de agrecanasa puede requerir la penetración a través de la matriz de cartílago.

Inicialmente, la evaluación de la capacidad de un mAb para penetrar en el cartílago humano se realizó sobre el tejido *ex vivo* usando mAb con especificidades múltiples, incluyendo mAb anti-ADAMTS5 seleccionados. Se colocaron tapones de cartílago de espesor completo, que atravesaban la superficie sinovial a través del hueso subcondral, de muestras quirúrgicas de reemplazo de rodilla en cultivo de tejidos por duraciones definidas en presencia de anticuerpos monoclonales de ratón con especificidades por proteínas humanas localizadas en la superficie de los condrocitos o controles de isotipo inespecíficos. Al final de cada punto temporal los tejidos se procesaron para evaluación del espesor total, se seccionaron y se tiñeron usando un anticuerpo de detección anti-ratón marcado con FITC. La penetración se define por la profundidad y la intensidad de la tinción de condrocitos dentro del tejido de cartílago. Independientemente de la especificidad de diana, se observó que la penetración de mAb era un proceso dependiente de tiempo y concentración que se origina principalmente desde la superficie sinovial del cartílago y avanza hasta la penetración del espesor total en 3-4 días dependiendo de la concentración (no se muestra). No se observó tinción para tapones de cartílago tratados con mAb de control de isotipo (no se muestra).

La evaluación *in vivo* de la penetración de cartílago se realizó usando anticuerpos monoclonales marcados con un colorante próximo al infrarrojo (NIR), incluyendo mAb selectivos para ADAMTS4, ADAMTS5 y controles de isotipo. Los mAb marcados con NIR se administraron por vía sistémica (por vía intraperitoneal) (dosis de 0,5 mg) a ratones que seis semanas antes se habían sometido a una inducción quirúrgica de artrosis (DMM). La biodistribución de mAb se controló en todo el animal a numerosos puntos temporales después de la administración usando un sistema Licor Odyssey. Cuatro días después de la administración de mAb los ratones se sacrificaron y se realizó formación de imágenes de la articulación de la rodilla en el Odyssey. Después se procesaron las articulaciones de la rodilla y se seccionaron para un análisis de alta resolución en un microcopio equipado con filtros y una cámara para detección de NIR. Dentro de los cuatro días siguientes a la administración sistémica de mAb podía observarse penetración del espesor total del cartílago para un mAb anti-ADAMTS5 y anti-ADAMTS4, mientras que no observó tinción específica para el mAb de control de isotipo (no se muestra). Se observaron patrones de tinción de condrocitos pericelulares característicos para mAb específicos de ADAMTS5 y ADAMTS4 (no se muestra).

Ejemplo 8 - Humanización de Anticuerpos - Clonación de Regiones Variables de Hibridoma

Se extrajo el ARN total de células de hibridoma 7B4.1E11 y 12F4.1H7, después se generó la secuencia de ADN del dominio variable de la cadena ligera y pesada mediante transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). El cebador directo para RT-PCR era una mezcla de cebadores degenerados específicos para secuencias líder de gen de inmunoglobulina murina y el cebador inverso era específico para las regiones constantes de anticuerpo, en este caso isotipo IgG1 para 7B4.1E11 e IgG2 para 12F4.1H7. Se diseñaron cebadores basándose en una estrategia descrita por Jones y Bendig (Bio/Technology 9: 88, 1991). La RT-PCR se realizó para ambas secuencias de la región V para permitir la verificación posterior de las secuencias de región V correctas. Los productos de región V generados por la RT-PCR se clonaron (Invitrogen TA Cloning Kit) y se obtuvieron los datos de secuencia.

Ejemplo 9 - Humanización de Anticuerpos - Clonación de la Quimera

Se prepararon construcciones de expresión de ADN que codificaban el anticuerpo quimérico *de novo* por acumulación del oligonucleótido solapantes incluyendo sitios de restricción para su clonación en vectores de expresión de mamífero, así como una secuencia señal humana. Se introdujeron sitios de restricción *HindIII* y *SpeI* para flanquear el dominio V_H que contiene la secuencia señal (SEC ID N°: 45) para su clonación en vectores de

expresión de mamífero que contienen la región constante $\gamma 1$ humana. Se introdujeron sitios de restricción *HindIII* y *BsiWI* para flanquear el dominio V_L que contenía la secuencia señal (SEC ID N°: 45) para su clonación en un vector de expresión de mamífero que contiene la región constante kappa humana.

5 **Ejemplo 10 - Humanización de Anticuerpos - Clonación de las Variantes Humanizadas**

Las construcciones de expresión de ADN que codifican las variantes de anticuerpos humanizados se prepararon *de novo* por acumulación de oligonucleótidos solapantes que incluían sitios de restricción para su clonación en vectores de expresión de mamífero, así como una secuencia señal humana. Se introdujeron sitios de restricción *HindIII* y *SpeI* para 10 flanquear el dominio V_H que contiene la secuencia señal (SEC ID N°: 45) para su clonación en vectores de expresión de mamífero que contienen la región constante $\gamma 1$ humana. Se introdujeron sitios de restricción *HindIII* y *BsiWI* para flanquear el dominio V_L que contiene la secuencia señal (SEC ID N°: 45) para su clonación en un vector de expresión de mamífero que contiene la región constante kappa humana.

15 Tabla 4: Variantes de Anticuerpo

ID Anticuerpo	Nombres Alternativos	Descripción	SEC ID N°: de la secuencia de nucleótidos	SEC ID N°: de la secuencia de aminoácidos
BPC1622	Quimera de 7B4	cadena pesada quimérica de 7B4	67	68
		cadena ligera quimérica de 7B4	69	70
BPC1623	Quimera de 12F4	cadena pesada quimérica de 12F4	71	72
		cadena ligera quimérica de 12F4	73	74
BPC1634	7B4 H0L0	cadena pesada H0 de 7B4	83	84
		cadena ligera L0 de 7B4	97	98
BPC1635	7B4 H1L0	cadena pesada H1 de 7B4	85	86
		cadena ligera L0 de 7B4	97	98
BPC1636	7B4 H2L0	cadena pesada H2 de 7B4	87	88
		cadena ligera L0 de 7B4	97	98
BPC1637	7B4 H3L0	cadena pesada H3 de 7B4	89	90
		cadena ligera L0 de 7B4	97	98
BPC1638	7B4 H4L0	cadena pesada H4 de 7B4	91	92
		cadena ligera L0 de 7B4	97	98
BPC1639	7B4 H5L0	cadena pesada H5 de 7B4	93	94
		cadena ligera L0 de 7B4	97	98
BPC1640	7B4 H6L0	cadena pesada H6 de 7B4	95	96
		cadena ligera L0 de 7B4	97	98
BPC1641	7B4 H0L1	cadena pesada H0 de 7B4	83	84
		cadena ligera L1 de 7B4	99	100

BPC1642	7B4 H1L1	cadena pesada H1 de 7B4	85	86
		cadena ligera L1 de 7B4	99	100
BPC1643	7B4 H2L1	cadena pesada H2 de 7B4	87	88
		cadena ligera L1 de 7B4	99	100
BPC1644	7B4 H3L1	cadena pesada H3 de 7B4	89	90
		cadena ligera L1 de 7B4	99	100
BPC1645	7B4 H4L1	cadena pesada H4 de 7B4	91	92
		cadena ligera L1 de 7B4	99	100
BPC1646	7B4 H5L1	cadena pesada H5 de 7B4	93	94
		cadena ligera L1 de 7B4	99	100
BPC1647	7B4 H6L1	cadena pesada H6 de 7B4	95	96
		cadena ligera L1 de 7B4	99	100
BPC1648	7B4 H0L2	cadena pesada H0 de 7B4	83	84
		cadena ligera L2 de 7B4	101	102
BPC1649	7B4 H1L2	cadena pesada H1 de 7B4	85	86
		cadena ligera L2 de 7B4	101	102
BPC1650	7B4 H2L2	cadena pesada H2 de 7B4	87	88
		cadena ligera L2 de 7B4	101	102
BPC1651	7B4 H3L2	cadena pesada H3 de 7B4	89	90
		cadena ligera L2 de 7B4	101	102
BPC1652	7B4 H4L2	cadena pesada H4 de 7B4	91	92
		cadena ligera L2 de 7B4	101	102
BPC1653	7B4 H5L2	cadena pesada H5 de 7B4	93	94
		cadena ligera L2 de 7B4	101	102
BPC1654	7B4 H6L2	cadena pesada H6 de 7B4	95	96
		cadena ligera L2 de 7B4	101	102
BPC1655	12F4 H0L0	cadena pesada H0 de 12F4	103	104
		cadena ligera L0 de 12F4	113	114
BPC1656	12F4 H1L0	cadena pesada H1 de 12F4	105	106
		cadena ligera L0 de 12F4	113	114
BPC1657	12F4 H2L0	cadena pesada H2 de 12F4	107	108
		cadena ligera L0 de 12F4	113	114
BPC1658	12F4 H3L0	cadena pesada H3 de 12F4	109	110
		cadena ligera L0 de 12F4	113	114
BPC1659	12F4 H4L0	cadena pesada H4 de 12F4	111	112
		cadena ligera L0 de 12F4	113	114

Ejemplo 11 – Humanización de Anticuerpos - Expresión de los anticuerpos recombinantes (incluyendo cuantificación de anticuerpos)

Plásmidos de expresión que codifican las cadenas pesada y ligera respectivamente se
5 cotransfectaron de forma transitoria en células HEK 293 6E y se expresaron a pequeña a
escala para producir anticuerpos. También se expresaron las cadenas pesada y ligera de los
anticuerpos quiméricos 7B4 y 12F4 y un anticuerpo de control irrelevante. Los anticuerpos
se cuantificaron mediante ELISA. Se recubrieron placas de ELISA con anti-IgG humana
(Sigma I3382) a 1 µg/ml y se bloquearon con solución de bloqueo (BSA al 4% en solución
10 salina tamponada con Tris). Se añadieron diversas diluciones de los sobrenadantes de cultivo
de tejido y la placa se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. También se añadieron a

la placa diluciones de un anticuerpo patrón conocido. La placa se lavó en TBST y se detectó la unión por adición de un anticuerpo anti-cadena ligera kappa humana marcado con peroxidasa (Sigma A7164) a una dilución de 1/1000 en solución de bloqueo. La placa se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente antes de lavar en TBST. La placa se reveló por adición de sustrato OPD (Sigma P9187) y se interrumpió el desarrollo de color por adición de H₂SO₄ 2 M. La absorbancia se midió a 490 nm y se representó una curva patrón usando datos para las diluciones patrón conocidas. La curva patrón se usó para estimar la concentración de anticuerpo en los sobrenadantes de cultivo de tejido.

Ejemplo 12 - ELISA de unión a ADAMTS5

Se realizó un ELISA de unión para ensayar la unión de los anticuerpos expresados en sobrenadante de cultivo de células ADAMTS5 recombinante. Se recubrieron placas de ELISA con ADAMTS5 humano recombinante a 0,2 µg/ml y se bloquearon con solución de bloqueo (BSA al 4% en solución salina tamponada con Tris). Se añadieron diversas diluciones de los sobrenadantes de cultivo de tejido y la placa se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente antes de lavar en TBST. Se detectó la unión por adición de un anticuerpo anti-cadena ligera kappa humana marcado con peroxidasa (Sigma A7164) a una dilución de 1/1000 en solución de bloqueo. La placa se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente antes de lavar en TBST. La placa se reveló por adición de sustrato OPD (Sigma P9187) y el desarrollo de color se interrumpió por adición de H₂SO₄ 2 M. Se midió la absorbancia a 490 nm con un vector de placas y la absorbancia media se representó frente a la concentración.

Las Figuras 6-9 muestran la unión de los anticuerpos anti-ADAMTS5 humanizados a antígeno recombinante.

Ejemplo 13 - BIAcore

Se inmovilizó anti-IgG humana (Biacore™, BR-1008-39) en una microplaca CM5 por acoplamiento con amina primaria. Después se usó esta superficie para capturar los anticuerpos humanizados, después se pasó ADAMTS5 (R&D Systems 2198-AD) sobre el anticuerpo capturado a una sola concentración de 64 nM, se realizó la regeneración usando ácido fosfórico 100 mM seguido de MgCl₂ 3 M. Las curvas de unión se dotaron de dobles referencias con inyección de tampón (es decir, 0 nM) y los datos se ajustaron al programa informático de análisis T100 usando el modelo 1:1. El procesamiento se realizó a 25°C, usando HBS-EP como tampón de procesamiento. Los datos obtenidos se muestran en la Tabla 5. Todos los anticuerpos se capturaron a partir de sobrenadante de cultivo de tejido a menos que se especifique otra cosa.

Tabla 5 – Cinética de la unión a ADAMTS5

127

Muestra	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
BPC1623 (purificado)	6,463E+05	4,700E-05	0,07273
BPC1622 (purificado)	8,723E+05	1,056E-03	1,211
BPC1622	1,159E+06	1,305E-03	1,125
BPC1623	6,234E+05	4,823E-05	0,07737
BPC1634	5,538E+05	4,811E-04	0,8687
BPC1635	7,041E+05	8,258E-04	1,173
BPC1636	1,073E+06	8,963E-04	0,8357
BPC1637	1,119E+06	9,625E-04	0,8604
BPC1638	8,749E+05	8,309E-04	0,9497
BPC1639	9,271E+05	8,937E-04	0,9639
BPC1640	7,870E+05	8,492E-04	1,079
BPC1641	7,144E+05	9,453E-04	1,323
BPC1642	8,874E+05	1,210E-03	1,364
BPC1643	1,362E+06	1,434E-03	1,053
BPC1644	1,491E+06	1,572E-03	1,054
BPC1645	1,119E+06	1,159E-03	1,036
BPC1646	1,788E+06	1,843E-03	1,031
BPC1647	1,485E+06	1,453E-03	0,9784
BPC1648	7,875E+05	9,512E-04	1,208
BPC1649	1,023E+06	1,297E-03	1,267
BPC1650	3,140E+06	3,427E-03	1,091
BPC1651	2,653E+06	3,150E-03	1,188
BPC1652	1,963E+06	2,122E-03	1,081
BPC1653	2,236E+06	2,597E-03	1,161
BPC1654	1,040E+06	1,137E-03	1,094
BPC1655	no se observó unión		
BPC1656	6,327E+05	3,950E-04	0,6243
BPC1657	5,850E+05	7,540E-05	0,1289
BPC1658	4,483E+05	1,398E-04	0,3119
BPC1659	4,894E+05	4,147E-05	0,08475

Ejemplo 14. Afinidad comparativa de mAb de ADAMTS5 murinos, quiméricos y humanizados

Se evaluó la afinidad para los mAb en dos formatos (antígeno sobre detector, Octet QK y anticuerpo sobre detector, Biacore) (Tabla 6). La relevancia del formato Octet QK, que sería representativo de una diana celular, es relevante para ADAMTS5 debido a la forma asociada con la célula de origen natural de la enzima *in vivo*. Sin embargo, puesto que ADAMTS5 también puede encontrarse en una forma secretada, también se evaluó la afinidad en un formato de anticuerpo sobre detector usando Biacore. Las diferencias observadas entre el análisis Octet y Biacore pueden representar variaciones de formato (es decir, antígeno sobre detector en Octet QK y mAb sobre detector en Biacore) y diferencias técnicas entre los sistemas. Sin embargo, cuando se procesaban en los mismos formatos los sistemas eran extraordinariamente similares en términos de KD global para estos mAb. Se observaron diferencias en Kd y Ka probablemente debido a diferencias de diseño de los

instrumentos.

- El mAb CS humanizado (12F4 H4L0) presenta una afinidad global (KD) de 38,3 pM según se mide en el formato de antígeno abajo en el sistema Octet QK. El mAb 12F4 H4L0 demuestra una KD de 85 pM, en el formato de mAb abajo en el sistema Biacore. El 7B4
- 5 H0L0 mostrado como referencia, presenta una KD de 205 y 869 pM en los sistemas Octet QK y Biacore respectivamente. Se muestran valores de afinidad para las formas murina y quimérica de cada mAb en la presente memoria como referencia para demostrar que se conserva la afinidad después de la humanización.

Tabla 6. Afinidad comparativa de mAb de ADAMTS5 murinos, quiméricos y humanizados

mAb	Afinidad (Biacore) mAb abajo sin avidéz			Afinidad (Octet QK) de antígeno abajo incluyendo avidéz		
	K _a	K _d	KD	K _a	K _d	KD
12F4.1H7 murino	1,56E+06	1,04E-04	0,067 nM	6,99E+04	2,49E-06	0,0356 nM
12F4.1H7 quimérico	1,56E+06	7,86E-05	0,051 nM	6,85E+04	2,96E-06	0,0431 nM
12F4.1H7 H4L0 humanizado	4,89E+05	4,15E-05	0,085 nM	7,54E+04	2,88E-06	0,0383 nM
7B4.1E11 murino	4,81E+06	2,32E-03	0,483 nM	9,25E+04	2,59E-05	0,280 nM
7B4.1E11 quimérico	2,43E+06	1,14E-03	0,473 nM	1,00E+05	2,61E-05	0,260 nM
7B4.1E11 H0L0 humanizado	5,54E+05	4,81E-04	0,869 nM	1,06E+05	2,16E-05	0,205 nM

Ejemplo 15. Intervalo de dosis de 12F4 H4L0 humanizado de experimento de explante de cartílago OA humano

5 El mAb de Fc inutilizado 12F4 H4L0 humanizado se evaluó en este sistema en un formato de respuesta a la dosis frente a un isotipo de Fc inutilizado apropiado y otros controles positivos y negativos en comparación con la versión 12F4.1H7 murina precursora en una sola dosis. Se evaluaron individualmente múltiples donantes (n = 4) en este estudio los resultados se recopilaron para generar una puntuación de inhibición media por toda una

10 población de pacientes con OA. Se usó GSK571949 a una sola concentración (2 µM) como control de ensayo para ajustar los niveles de inhibición máxima. Los resultados demuestran una clara respuesta a la dosis de 12F4 H4L0, consiguiéndose una respuesta máxima a la mayor dosis (1333 nM) en comparación con un intervalo de dosis de mAb de control de isotipo humanizado irrelevante (Figura 4c). Se consiguió una inhibición casi completa del

15 neocpítopo ARGS en relación con GSK571949 a la mayor dosis (~200 µg/ml). Además, el nivel de inhibición para 12F4 H4L0 se demostró que era superior que el de 12F4.1H7 en estos donantes, sugiriendo que se retenía la eficacia después de la humanización. Aunque el nivel de eficacia es superior para la versión humanizada del mAb no está claro si éste es un aumento verdadero o debido a diferencias en las preparaciones de mAb. Debería señalarse

20 que el nivel de eficacia observado con la forma 12F4.1H7 del mAb en experimentos separados con donantes con OA adicionales era superior al observado aquí (Figura 10). Teniendo en cuenta la importancia de este sistema para la enfermedad humana y la eficacia observada, estos datos confirman claramente la validación de esta estrategia y estos mAb.

Ejemplo 16. Experimento de marcaje y seguimiento terapéutico de explante de cartílago OA humano

25 Este experimento se diseñó como en el Ejemplo 15, sin embargo, después de una duración de tratamiento de 5 días con los mAb compuestos para permitir la saturación del sistema, se retiraron los tratamientos y se sustituyeron con medios recién preparados que carecían de tratamiento. El ensayo se continuó durante 4 semanas con muestreo periódico de

los medios de cultivo para evaluación posterior de los marcadores de degradación de cartílago. Después de cada muestreo, el mismo volumen retirado en la muestra se sustituyó con medio recién preparado. Este formato se diseñó para abordar la potencia y la duración del efecto terapéutico y sugerir indirectamente la tasa de renovación durante ADAMTS5 dentro del tejido. Los resultados mostrados se recopilaron de experimentos idénticos usando 4 donantes con OA humanos diferentes (Figura 11). Estos resultados proporcionan pruebas de la duración prolongada de la respuesta de mAAb de ADAMTS5 en cartílago OA humano incluso en un estado patológico avanzado (es decir, en el momento del reemplazo de la articulación). Además, estos resultados proporcionan pruebas de la baja tasa de renovación de ADAMTS5 en tejido enfermo.

Ejemplo 17. Anticuerpo Humanizado de Fc Inutilizado

El gen codificante del dominio V_H H4 de 12F4 humanizado se clonó en la región constante gamma 1 humana modificada, IgG1m(AA). La región constante de IgG1m(AA) contiene dos sustituciones de alanina en el dominio CH2 en las posiciones L235 y G237 (numeración de índice EU). Estas mutaciones vuelven al anticuerpo resultante incapaz unirse a los receptores de Fc necesarios o al componente del complemento C1q, inutilizando de este modo su capacidad para inducir la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) o la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC).

Tabla 7

			Secuencia de ADN	Secuencia de aminoácidos
BPC1659	12F4 H4L0 IgG1m(AA)	cadena pesada H4 de 12F4	159	158
		cadena ligera L0 de 12F4	113	114

Se expresaron plásmidos de expresión que codificaban las cadenas pesadas y ligeras de los anticuerpos BPC1623 (Quimera de 12F4), BPC1659 (12F4 H4L0 IgG1wt) y BPC1661 (12F4 H4L0 IgG1m(AA)) en células HEK. Se purificaron los anticuerpos por cromatografía de afinidad de proteína A y se cuantificaron por espectrofotometría.

Se realizó un ELISA de unión para comparar la unión de los anticuerpos purificados a ADAMTS5. Se incluyó como control negativo un anticuerpo irrelevante de isotipo IgG1wt y un anticuerpo de Fc inutilizado. En resumen, se recubrieron placas con ADAMTS5 humano recombinante a 0,2 µg/ml y se bloquearon con solución de bloqueo (BSA al 4% en solución salina tamponada con Tris). Se añadieron diversas concentraciones de anticuerpo purificado y la placa se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente antes del lavado con TBST (solución salina tamponada con Tris + Tween 20 al 0,05%). Se detectó la unión por adición de un anticuerpo anti-cadena ligera kappa humana marcado con peroxidasa (Sigma

129

A7164) a una dilución de 1/1000 en solución de bloqueo. La placa se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente antes de lavar en TBST. La placa se reveló por adición de sustrato OPD (Sigma P9187) y se interrumpió el desarrollo de color por adición de H₂SO₄ 2 M. La absorbancia se midió a 490 nm con un lector de placas y la absorbancia media se representó frente a la concentración.

La Figura 12 muestra la unión de los anticuerpos anti-ADAMTS5 purificados a antígeno recombinante.

Ejemplo 18. Biacore de Anticuerpo de Fc Inutilizado

Se inmovilizó proteína A en una microplaca biodetectora CM5 por acoplamiento con amina primaria. Esta superficie se usó para capturar el anticuerpo anti-ADAMTS5 de Fc inutilizado, 12F4 H4L0 IgG1m(AA) (BPC1661), (material expresado en CHO y HEK). Se usó ADAMTS5 humana recombinante (R&D Systems 2198-AD) como el analito a 64 nM, 16 nM, 4 nM, 1 nM, 0,25 nM y 0,0625 nM, usándose una inyección de tampón (es decir 0 nM) para dotar de doble referencia a las curvas de unión. La regeneración de la superficie de captura (es decir, renovación del anticuerpo capturado) era con NaOH 50 mM. El tampón de procesamiento era HBS-EP y el procesamiento se realizó en el Biacore T100 a 25°C. Los datos se ajustaron al modelo 1:1 inherente al programa informático de análisis de las máquinas. Los resultados mostraban que no existían diferencias entre el material producido en diferentes líneas celulares en términos de afinidad de unión.

Resultados

Construcción	ka	kd	KD (nM)
12F4 H4L0 IgG1m(AA) (expresado en HEK)	9,43E+05	6,98E-05	0,074
12F4 H4L0 IgG1m(AA) (expresado en CHO)	8,30E+05	5,85E-05	0,070

Ejemplo 19. Modelado de la estructura por cristalografía de la interacción antígeno-anticuerpo - Implicaciones para el epítipo y MOA

El modelado informático de la estructura de 'mejor ajuste' mediante simulación por ordenador usando estructuras cristalinas separadas para la ADAMTS5 y el mAb de ADAMTS5 12F4.H17 sugiere interacciones de antígeno/anticuerpo simultáneas entre ambos dominios catalítico y desintegrina de ADAMTS5. Los dominios catalítico y desintegrina de las proteasas ADAM y ADAMTS están separados por una región bisagra que confiere flexibilidad entre los dominios que puede actuar regulando la función o permitiendo la localización de sustrato en el sitio catalítico. La unión de mAb de alta afinidad observada en este dominio que abarca el epítipo probablemente 'bloquea' los dominios catalítico y desintegrina de ADAMTS5 a la vez, neutralizando de este modo la actividad enzimática. Se

muestran en la Figura 12 los sitios de aminoácidos predichos de la interacción entre ADAMTS5 y el mAb 12F4.1H7.

Descripciones de secuencia	Identificador de secuencia (SEC ID N°)	
	secuencia de aminoácidos	secuencia de ADN
Secuencia de péptido señal	46	45
Cadena pesada variable de ratón de 7B4	48	47
Cadena ligera variable de ratón de 7B4	50	49
Cadena pesada variable de ratón de 12F4	52	51
Cadena ligera variable de ratón de 12F4	54	53
CDRH1 de 7B4	55	
CDRH2 de 7B4	56	
CDRH3 de 7B4	57	
CDRL1 de 7B4	58	
CDRL2 de 7B4	59	
CDRL3 de 7B4	60	
CDRH1 de 12F4	61	
CDRH2 de 12F4	62	
CDRH3 de 12F4	63	
CDRL1 de 12F4	64	
CDRL2 de 12F4	65	
CDRL3 de 12F4	66	
Cadena pesada de quimera de 7B4	68	67
Cadena ligera de quimera de 7B4	70	69
Cadena pesada de quimera de 12F4	72	71
Cadena ligera de quimera de 12F4	74	73
Región variable de la cadena pesada de quimera de 7B4	76	75
Región variable de la cadena ligera de quimera de 7B4	78	77
Región variable de la cadena pesada de quimera de 12F4	80	79
Región variable de la cadena ligera de quimera de 12F4	82	81
Cadena pesada H0 de 7B4	84	83
Cadena pesada H1 de 7B4	86	85
Cadena pesada H2 de 7B4	88	87
Cadena pesada H3 de 7B4	90	89
Cadena pesada H4 de 7B4	92	91
Cadena pesada H5 de 7B4	94	93
Cadena pesada H6 de 7B4	96	95
Cadena ligera L0 de 7B4	98	97

Descripciones de secuencia	Identificador de secuencia (SEC ID N°)	
	secuencia de aminoácidos	secuencia de ADN
Cadena ligera L1 de 7B4	100	99
Cadena ligera L2 de 7B4	102	101
Cadena pesada H0 de 12F4	104	103
Cadena pesada H1 de 12F4	106	105
Cadena pesada H2 de 12F4	108	107
Cadena pesada H3 de 12F4	110	109
Cadena pesada H4 de 12F4	112	111
Cadena ligera L0 de 12F4	114	113
Región variable de cadena pesada H0 de 7B4	116	115
Región variable de cadena pesada H1 de 7B4	118	117
Región variable de cadena pesada H2 de 7B4	120	119
Región variable de cadena pesada H3 de 7B4	122	121
Región variable de cadena pesada H4 de 7B4	124	123
Región variable de cadena pesada H5 de 7B4	126	125
Región variable de cadena pesada H6 de 7B4	128	127
Región variable de cadena ligera L0 de 7B4	130	129
Región variable de cadena ligera L1 de 7B4	132	131
Región variable de cadena ligera L2 de 7B4	134	133
Región variable de cadena pesada H0 de 12F4	136	135
Región variable de cadena pesada H1 de 12F4	138	137
Región variable de cadena pesada H2 de 12F4	140	139
Región variable de cadena pesada H3 de 12F4	142	141
Región variable de cadena pesada H4 de 12F4	144	143
Región variable de cadena ligera L0 de 12F4	146	145

REIVINDICACIONES

1. Una proteína de unión a antígeno aislada que comprende al menos un primer dominio variable de inmunoglobulina capaz de unirse a ADAMTS5 humana.
5
2. La proteína de unión a antígeno de la reivindicación 1, en la que dicha proteína de unión a antígeno es un anticuerpo o un fragmento del mismo.
3. La proteína de unión a antígeno de reivindicaciones 1 ó 2, en la que dicho anticuerpo
10 es un anticuerpo monoclonal o un fragmento del mismo.
4. La proteína de unión a antígeno de la reivindicación 3, en la que dicho anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo es de ratón, quimérico, humanizado o totalmente humano.
15
5. La proteína de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que dicha proteína de unión a antígeno comprende al menos una región determinante de complementariedad.
- 20 6. La proteína de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicha proteína de unión a antígeno es un anticuerpo monoclonal que comprende una cadena pesada que comprende la CDRH1, CDRH 2 y CDRH3 y una cadena ligera que comprende la CDRL1, CDRL 2 y CDRL 3, en el que las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la cadena pesada se seleccionan del grupo de:
25 a) CDRH1 que tiene una identidad de secuencia de al menos aproximadamente 80% con la secuencia de aminoácidos DAWMD;
b) CDRH2 que tiene una identidad de secuencia de al menos aproximadamente 70% con la secuencia de aminoácidos EIRHKANDHAIIFYXESVKG; y
c) CDRH3 que tiene una identidad de secuencia de al menos aproximadamente
30 70% con la secuencia de aminoácidos TYYYGSSYGYCDV o PFAY; y
las regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera se seleccionan del grupo de:
d) CDRL1 que tiene una identidad de secuencia de al menos aproximadamente 70% con la secuencia de aminoácidos KASQSVGITIV o RTSENIYSYLA;
35 e) CDRL2 que tiene una identidad de secuencia de al menos aproximadamente

70% con la secuencia de aminoácidos NAKTLAE o SASNRXT; y

f) CDRL3 que tiene una identidad de secuencia de al menos aproximadamente 70% con la secuencia de aminoácidos QOYSSYPFT o OHHYGTPWT.

5 7. La proteína de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicho polipéptido es un anticuerpo monoclonal que comprende una cadena pesada que comprende la CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una cadena ligera que comprende la CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en el que las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la cadena pesada se seleccionan de:

10 (a) la CDRH1 es la secuencia de aminoácidos DAWMD;

(b) la CDRH2 se selecciona de las secuencias de aminoácidos EIRHKANDHAIFYAESVKG, EIRNKANNHARHYAESVKG, EIRHKANDYAIFYDESVKG, EIRHKANDHAIFYDESVKG o DIRNTANNHATFYAESVKG, EIRHKANDHAIFYDESVKG ; y

15 (c) 1a CDRH3 es TYYYGSSYGYCDV; y

las regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera se seleccionan de:

(d) la CDRL1 se selecciona de las secuencias de aminoácidos
KASQSVGTTIV, RTSENIYSYLA, o KASONVGTAVV;

(e) la CDRL2 se selecciona de la secuencia de aminoácidos NAKTLAE, SASNRHT, SASTRYT o SASNRYT; y

(f) la CDRL3 se selecciona de la secuencia de aminoácidos QQYSSYPFT, QHHYGPWT, QQYVNYPFT, o QQYTSYPFT.

25 8. La proteína de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos PFAY.

9. La proteína de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que dicho polipéptido es un fragmento Fab o F(ab)₂.

30

10. La proteína de unión a antígeno de la reivindicación 1, en la que el primer dominio variable de inmunoglobulina es un dominio variable de cadena sencilla.

11. La proteína de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en
35 la que dicha proteína de unión a antígeno comprende además un segundo dominio variable

de inmunoglobulina capaz de unirse a un segundo antígeno.

12. La proteína de unión a antígeno de la reivindicación 11, en la que dicho segundo dominio variable de inmunoglobulina se une a al menos un antígeno seleccionado del grupo de: albúmina sérica humana, ADAMTS4, NGF, OSM, TNF- α , IL-6, VIP, TRPV1, TRPV4, ADAMTS1, Agrecano, Colágeno II, RANKL, y/o IL-1.
13. La proteína de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, caracterizada por una constante de disociación KD(off) igual o menor a aproximadamente $2,5 \times 10^{-10}$ M para ADAMTS5 humana.
14. La proteína de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en la que dicha proteína de unión a antígeno bloquea y/o reduce al menos una actividad de ADAMTS5.
15. La proteína de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en la que dicha proteína de unión a antígeno bloquea y/o reduce la escisión de agrecano por ADAMTS5 en el sitio de escisión Glu³⁷³-Ala³⁷⁴.
16. La proteína de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en la que dicha proteína de unión a antígeno es capaz de penetrar en el cartílago cuando se administra a un animal.
17. Un polinucleótido aislado que codifica una proteína de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16.
18. Una célula hospedadora que comprende el polinucleótido de la reivindicación 17.
19. Una composición farmacéutica que comprende al menos una de las proteínas de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18.
20. Una composición farmacéutica que comprende una primera proteína de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 y un segundo anticuerpo monoclonal.

21. La composición farmacéutica de la reivindicación 20, en la que dicho segundo anticuerpo monoclonal se une a un antígeno seleccionado del grupo de ADAMTS4, ADAMTS5, NGF, OSM, TNF- α , IL-6, VIP, TRPV1, TRPV4, ADAMTS1, Agrecano, Colágeno II, RANKL, y/o IL-1.
- 5
22. Un método de tratamiento de un paciente que lo necesite, que comprende administrar al menos una dosis de composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21 dicho paciente.
- 10 23. El método de la reivindicación 22, en el que el paciente padece una enfermedad del cartílago.
24. El método de la reivindicación 23 en el que el paciente padece al menos una enfermedad seleccionada del grupo de: cáncer, dolor, dolor crónico, dolor neuropático, dolor postoperatorio, artrosis, lesiones deportivas, artritis erosiva, artritis reumatoide, artritis psoriásica, artritis de Lyme, artritis juvenil, neuralgia, neuropatías, algesia, lesión nerviosa, isquemia, neurodegeneración, enfermedades inflamatorias, degeneración del cartílago, enfermedades que afectan a la laringe, tráquea, canal auditivo, discos intervertebrales, ligamentos, tendones, cápsulas articulares o al desarrollo del hueso, degeneración de discos
- 15 20 intervertebrales, osteopenia, o enfermedades periodontales, lesión articular aguda y/o enfermedad relacionada con destrucción articular.
25. El método de la reivindicación 24, en el que paciente padece artrosis.
- 25 26. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 22 a 25, en el que la administración de al menos una dosis de dicha composición farmacéutica reduce la degradación de cartílago en dicho paciente.
27. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 22 a 26, en el que la
- 30 administración de al menos una dosis de dicha composición farmacéutica inhibe y/o reduce la escisión de agrecano en dicho paciente.
28. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 22 a 27, en el que dicha composición farmacéutica se administra por vía intravenosa, intramuscular, oral, intranasal
- 35 y/o mediante un inhalador respiratorio.

29. Un anticuerpo monoclonal aislado que comprende seis CDR, en el que la CDRH1 es DAWMD (SEC ID N°: 2), la CDRH2 es EIRNKANNHARIHYAESVKG (SEC ID N°: 13) y la CDRH3 es TYYYGSSYGYCDV (SEC ID N°: 18) y la CDRL1 es RTSENIYSYLA (SEC ID N°: 20), la CDRL2 es NAKTLAE (SEC ID N°: 22) y la CDRL3 es QIIHYGTPWT (SEC ID N°: 27).
30. Un anticuerpo monoclonal aislado que comprende seis CDR, en el que la CDRH1 es DAWMD (SEC ID N°: 2), la CDRH2 es EIRHKANDHAIIFYDESVKG (SEC ID N°: 15) y la CDRH3 es PFAY (SEC ID N°: 5) y la CDRL1 es KASQSVGTTIV (SEC ID N°: 19), la CDRL2 es SASNRHT (SEC ID N°: 23) y la CDRL3 es QQYTSYPFT (SEC ID N°: 29).
31. Un anticuerpo monoclonal aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une competitivamente a ADAMTS5 humana con un anticuerpo de la reivindicación 29 o de la reivindicación 30.
32. Un anticuerpo monoclonal aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une a un epítipo neutralizante de ADAMTS5 con una afinidad de al menos 1×10^8 litros/mol según se mide por una constante de asociación (K_a).
33. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones 29 a 31, en el que dicho anticuerpo comprende una región constante humana.
34. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la reivindicación 1, que es de la clase de inmunoglobulina IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 o IgM.
35. El fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 29 a 34, en el que dicho fragmento se selecciona del grupo que consiste en Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv.
36. Una proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma, que comprende un dominio V_H de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 76, 80, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 136, 138, 140, 142 y 144.

37. Una proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma, que comprende un dominio V_L de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 78, 82, 130, 132, 134 y 146.
- 5
38. Una proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma, que comprende un dominio V_H de anticuerpo de la reivindicación 36 y un dominio V_L de la reivindicación 37.
39. La proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma de la reivindicación 38, que comprende un dominio V_H de anticuerpo que comprende la SEC ID N°: 76 y un dominio V_L que comprende la SEC ID N°: 78.
- 10
40. La proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma de la reivindicación 38, que comprende un dominio V_H de anticuerpo que comprende la SEC ID N°: 80 y un dominio V_L que comprende la SEC ID N°: 82.
- 15
41. La proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma de la reivindicación 38, que comprende un dominio V_H de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 116, 118, 120, 122, 124, 126 y 128 y un dominio V_L que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 130, 132 y 134.
- 20
42. La proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma de la reivindicación 38, que comprende un dominio V_H de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 136, 138, 140, 142 y 144 y un dominio V_L que comprende la SEC ID N°: 146.
- 25
43. Una proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma, que comprende una cadena pesada de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 68, 72, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 104, 106, 108, 110, 112 y 158.
- 30
44. Una proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma, que comprende una cadena ligera de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 70, 74, 98, 100, 102 y 114.
- 35

45. Una proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma, que comprende una cadena pesada de anticuerpo de la reivindicación 43 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEC y una cadena ligera de anticuerpo de la reivindicación 44.

46. La proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma de la reivindicación 45, que comprende una cadena pesada de anticuerpo que comprende la SEC ID N°: 68 y una cadena ligera de anticuerpo que comprende la SEC ID N°: 70.

47. La proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma de la reivindicación 45, que comprende una cadena pesada de anticuerpo que comprende la SEC ID N°: 72 y una cadena ligera de anticuerpo que comprende la SEC ID N°: 74.

48. La proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma de la reivindicación 45, que comprende una cadena pesada de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 84, 86, 88, 90, 92, 94 y 96 y una cadena ligera de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 98, 100 y 102.

49. La proteína de unión a antígeno o un fragmento de la misma de la reivindicación 45, que comprende una cadena pesada de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 104, 106, 108, 110, 112 y 158 y una cadena ligera de anticuerpo que comprende la SEC ID N°: 114.

50. Un polinucleótido aislado que codifica un dominio V_H de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 76, 80, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 136, 138, 140, 142 y 144.

51. El polinucleótido aislado de la reivindicación 50 en el que dicho polinucleótido se selecciona del grupo que consiste en las SEC ID N°: 75, 79, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 135, 137, 139, 141, 143 y 159.

52. Un polinucleótido aislado que codifica un dominio V_L de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 78, 82,

130, 132, 134 y 146.

53. El polinucleótido aislado de la reivindicación 52, en el que dicho polinucleótido se selecciona del grupo que consiste en las SEC ID N°: 77, 81, 129, 131, 133 y 145.

5

54. Un polinucleótido aislado que codifica una cadena pesada de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 68, 72, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 104, 106, 108, 110, 112 y 158.

10 55. El polinucleótido aislado de la reivindicación 54, en el que dicho polinucleótido se selecciona del grupo que consiste en la SEC ID N°: 67, 71, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 103, 105, 107, 109, 111 y 159.

15 56. Un polinucleótido aislado que codifica una cadena ligera de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEC ID N°: 70, 74, 98, 100, 102 y 114.

57. El polinucleótido aislado de la reivindicación 56, en el que dicho polinucleótido selecciona del grupo que consiste en las SEC ID N°: 69, 73, 97, 99, 101 y 115.

20

58. Un método para el tratamiento de un paciente en necesidad del mismo, que comprende la administración de al menos un antígeno de unión a proteínas de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 16 a dicho paciente.

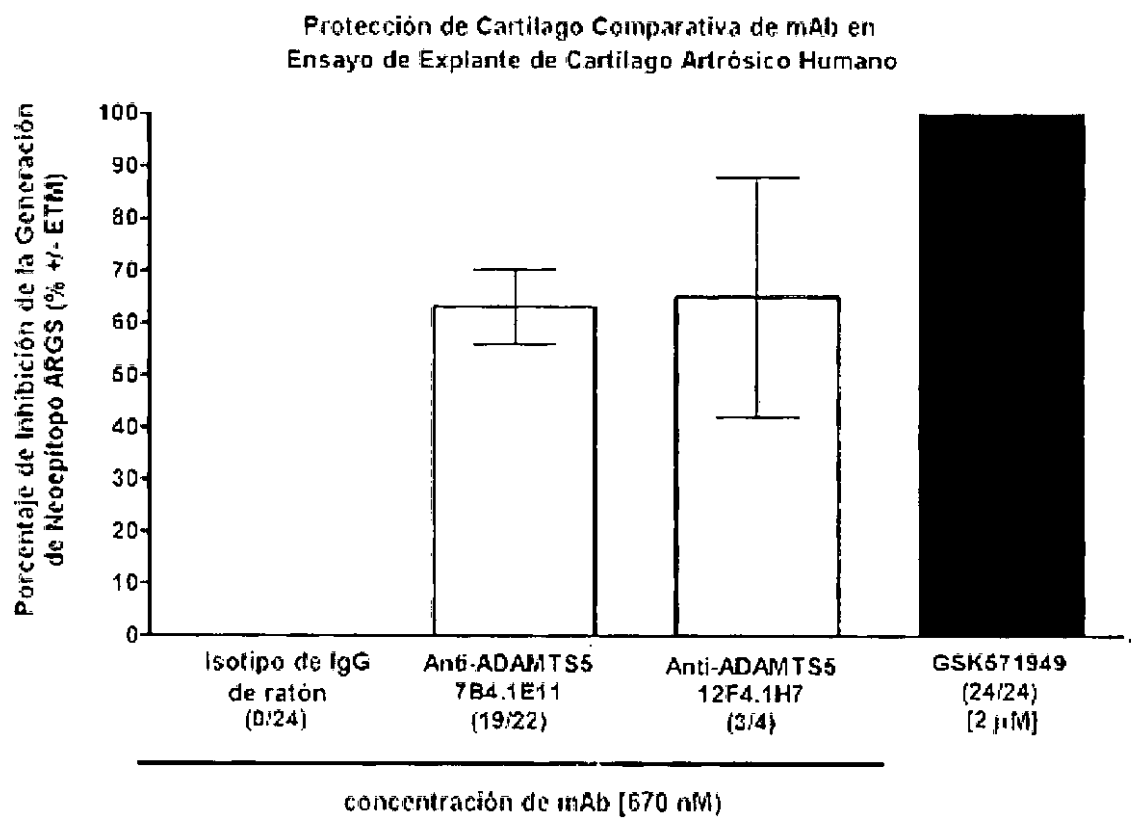
25 59. Un anticuerpo monoclonal aislado o fragmento de unión al antígeno del mismo, en donde dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se une a un epítipo neutralizante de humano ADAMTS5 con una constante de disociación (K_d) de menos de 5×10^{-4} litros/segundo.

RESUMEN

Se proporciona en la presente memoria una proteína de unión a antígeno aislada que comprende al menos un primer dominio variable de inmunoglobulina capaz de unirse a la

5 ADAMTS5 humana. También se proporcionan proteínas de unión a antígeno de la presente invención que son anticuerpos monoclonales, composiciones farmacéuticas que comprenden dichas proteínas de unión a antígeno y métodos de tratamiento.

Figura 1: Porcentaje de Inhibición de la Generación de Neopéptido ARGSVIL de mAb de ADAMTS5.



136

Figura 2: Inhibición Dependiente de la Concentración de la Generación de Neoepítipo ARGSVIL para el mAb Murino 7B4.1E11

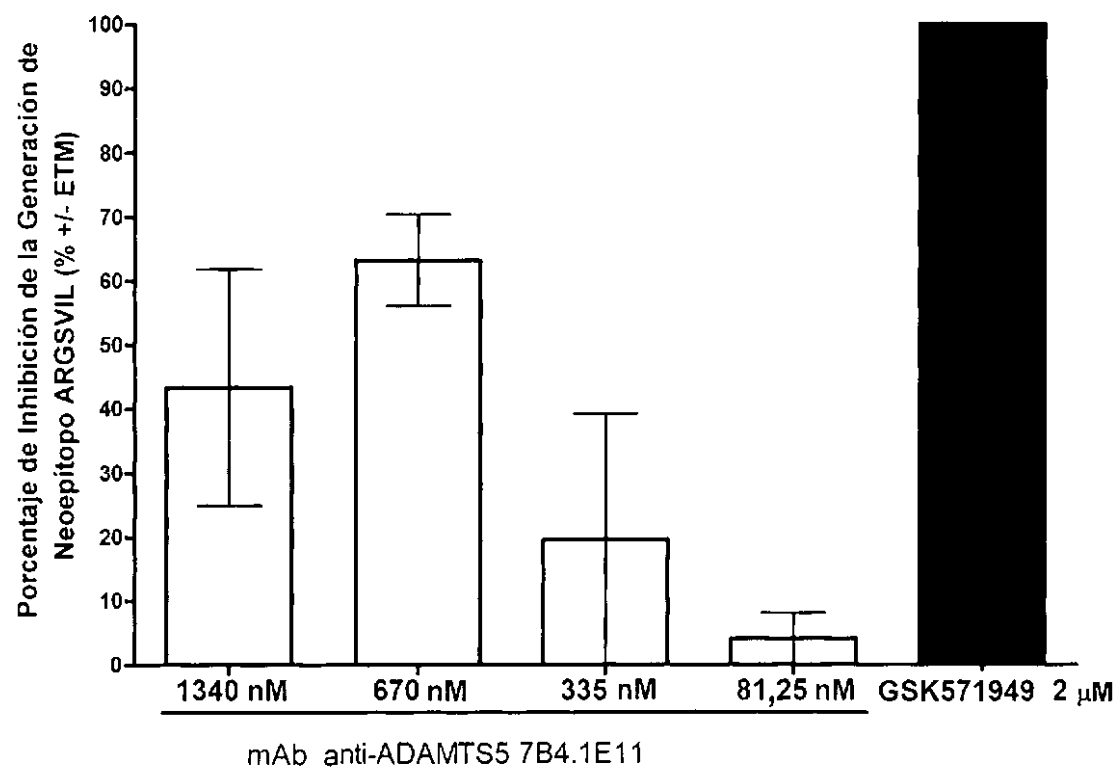
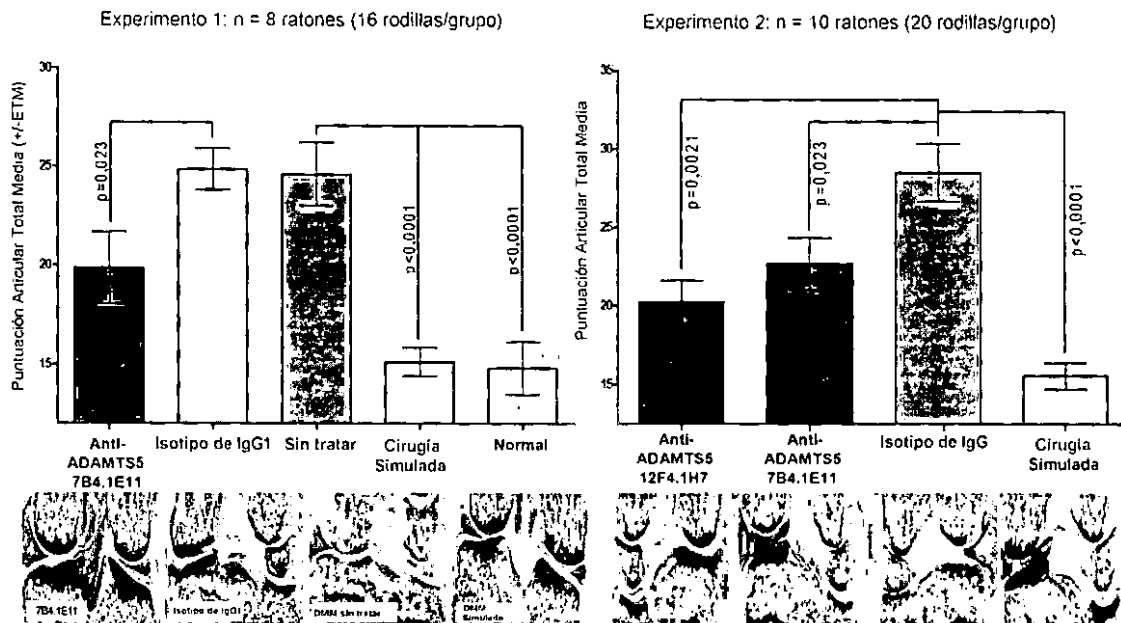


Figura 3: Puntuación Articular Total Media para Ratones Tratados con Anticuerpos de ADAMTS5 Seleccionados frente al Control



137

Figura 4: Secuencia de Aminoácidos de ADAMTS5 Humana

```

      MLLGWASLLLCARLPLAAVGPAATPAQDKAGQPPTAAAAAQPR
RRQGEEVQERAEP PGHPHPLAQRRRSKGLVQNIQLYSGGGKVGYL VYAGGRRFLDL
ERDGSVGIAGFVPAGGGTSAPWRHRSHCFYRGTVDGSPRSLAVFDLCGGLDGFFAVKH
ARYTLKPLL RGPWAEEEKGRVYGDGSARILHVYTREGFSFEALPPRASCETPASTPEA
HEHAPAHSNPSGRAALASQLLDQSALS PAGGSGPQTWRRRRRSISRARQVELLLVAD
ASMARLYGRGLQH YLLTLASIANRLYSHAS IENHIRLAVVKKVVLGDKDKSLEVSKNA
ATT LKNFCKWQH QHNQLGDDHEEHYDAA ILFTREDLCGHHSCDTLGMADVGTICSPER
SCAVIEDDGLHAAFTVAHEIGHLLGLSHDDSKFCEETFGSTEDKRLMSSILTSIDASK
PWSKCTSATIT EFLDDGHGNCLLDLPRKQILGPEELPGQTYDATQQCNLTFGPEYSVC
PGMDVCARLWCAVVRQGMVCLTKKLPAVEGTPCGKGRICLQKCVDKTKKKYSTSS
HGNWGSWGSWGQCSRSCGGGVQFAYRHCNNPAPRNNGRYCTGKRAIYRCSLMPCPPN
GKSPRHEQCEAKNGYQSDAKGVKTFVEWVPKYAGVLPADVCKLTCRAKGTGYVVFSP
KVTDGTECHLYSNSVCVRGKCVRTGCDGIIGSKLQYDKCGVCGDNDSSCTKIVGTFNK
KSKGYTDVVR IPEGATHIKVRQFKAKDQTRFTAYLALKKKNGEYLINGKYMISTSETI
IDINGTVMNYS GWSHRDDFLHGMGYSATKEILIVQILATDPTKPLDVRYSFVPPKST
PKVNSVTSHG SNKVGSHTSQPQWVTGPWLACSRCTGTGWHTRTVQCQDGNRKLAKGCP
LSQRPSAFKQCLLKKC (Sec ID N°: 43)

```

Figura 5: Secuencia de Aminoácidos de ADAMTS4 Humana sin Procesar

```

1  msqtgshpgr glagrwlwga qpclllpivp lswlvwllll llasllpsar lasplpreee
61  ivfpekings vlpqsgapar llcrlqafge tlilleleqds gvqvegltvq ylgqapellg
121 gaepgtyltg tingdpesva slhwdggall gvlqyrgael hlqpleggtp nsaggpgahi
181 lrrkspasgq gpmcnvkapl gspsprprra krfaslsrfv etlvvaddkm aafhgaglkr
241 ylltvmaaaa kafkhpsirn pvslvtrlv ilgsgeegpq vgpsaaqtlr sfcawqrgln
301 tpedsgpdhf dtailftrqd lcgfstcdtl gmadvgtvcd parscaived dglqsaftaa
361 helghvfnml hdnskpclsl ngplstsrhv mapvmahvdp eepwspcsar fitdflnngy
421 ghclldkpea plhlpvtfpg kdýdadrqcq ltfgpdsrhc pqlpppcaal wcsghlngha
481 mcqtkhspwa dgtpcgpaga cmggrcclhmd qlgdfnlpqa ggwgpgwpgwg dcsrtcgggv
541 qfssrdctrp vprnggkyce grtrfrscn tedcptgsal tfreeqcaay nhrtldfksf
601 pgpmdwvpry tgvapqdqck ltcqaralgy yyvleprvvd gtpcspdsss vcvqgrciha
661 gcdriigskk kfdkcmvcg dgsgcskqsg sfrkfrygyn nvvtipagat hilvrqggnp
721 ghysiylalk lpdgsyalng eytlmpspst vvlpgavslr ysgataaset lsghgplaqp
781 ltlqvlvagn pqdtrlrysf fvprptpstp rptpqdlhr raqileilrr rpwagr
(SEC ID N°: 44)

```


Figura 6

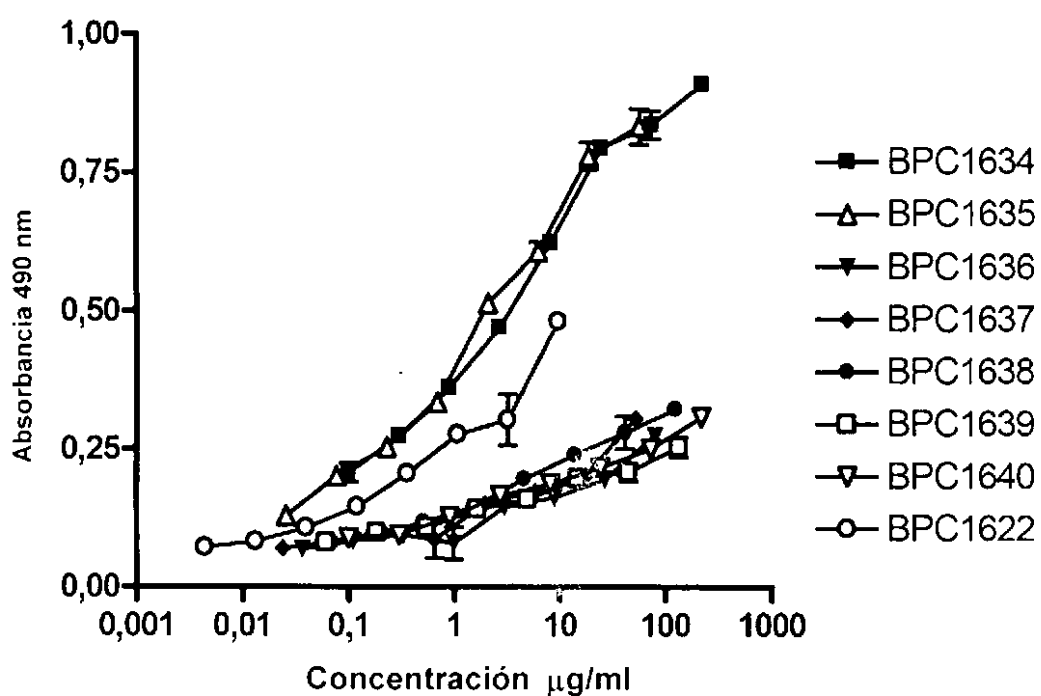


Figura 7

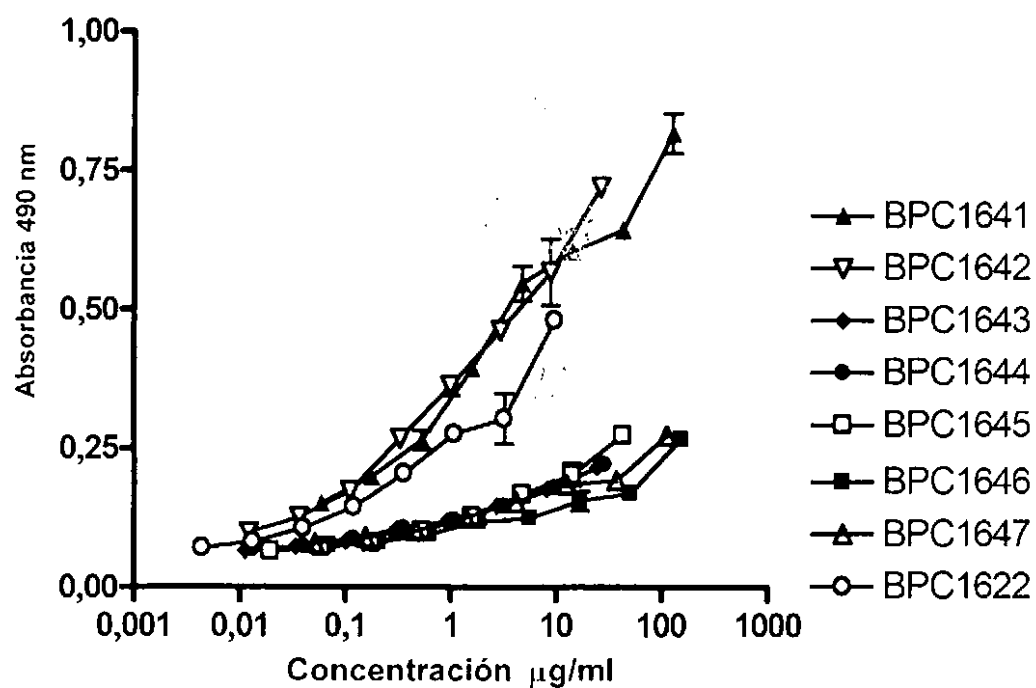


Figura 8

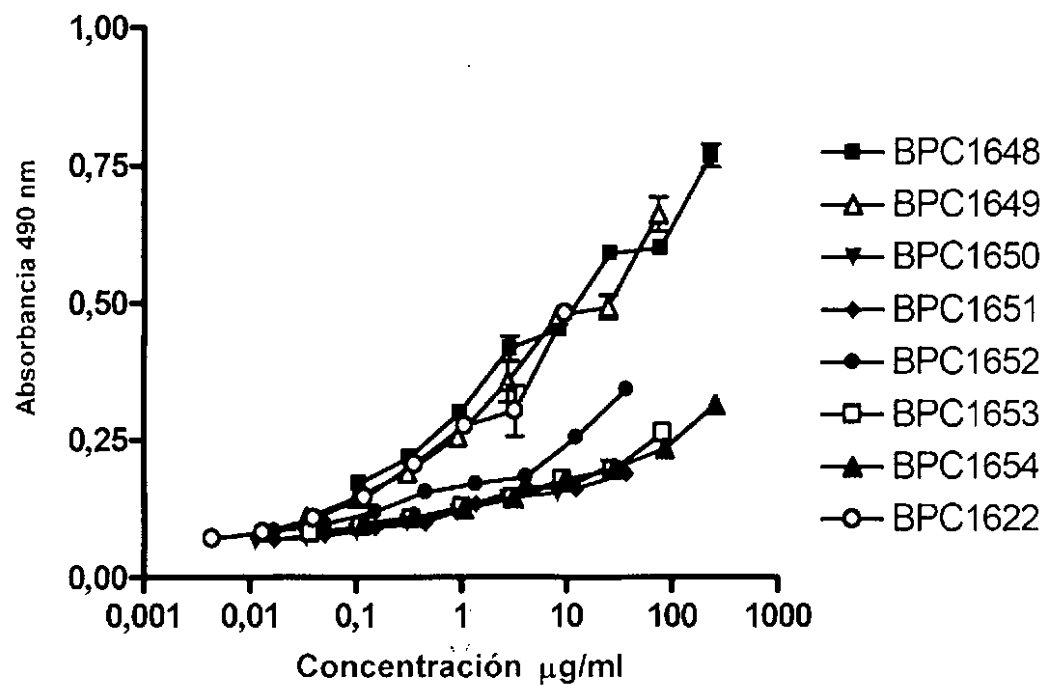


Figura 9

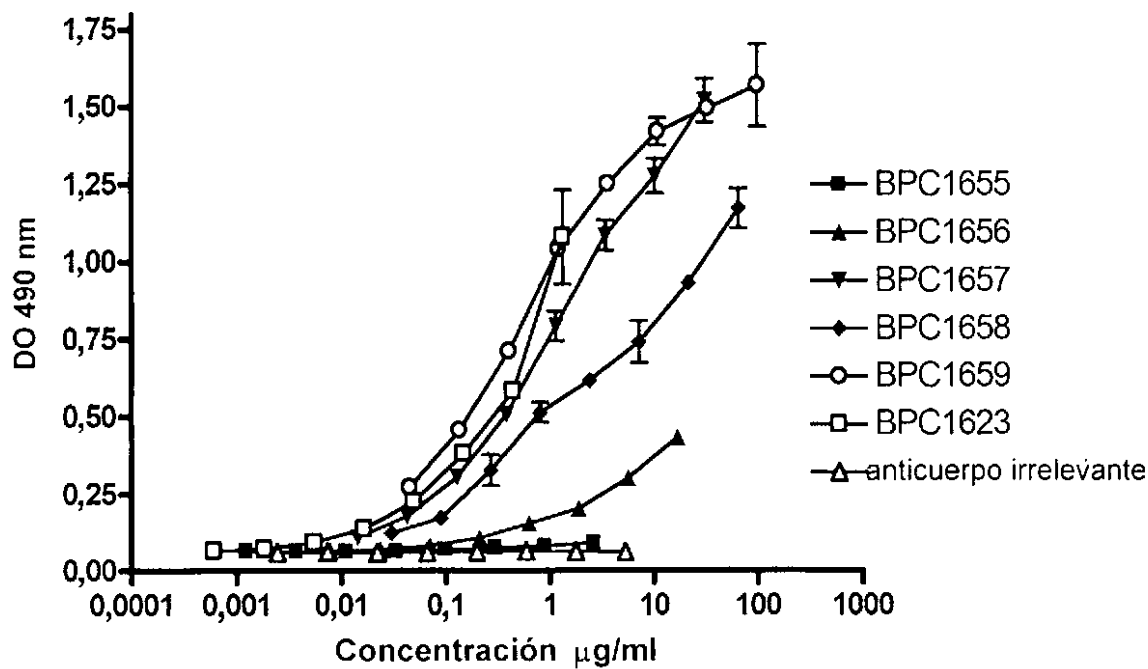


Figura 10

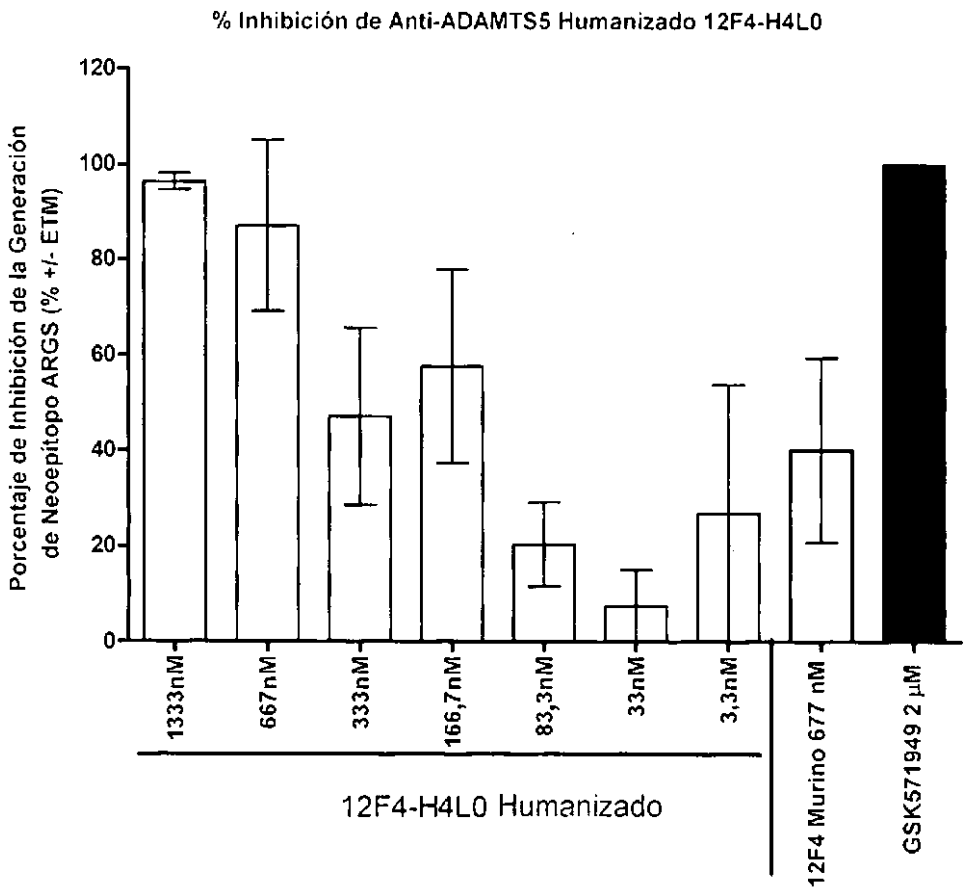


Figura 11

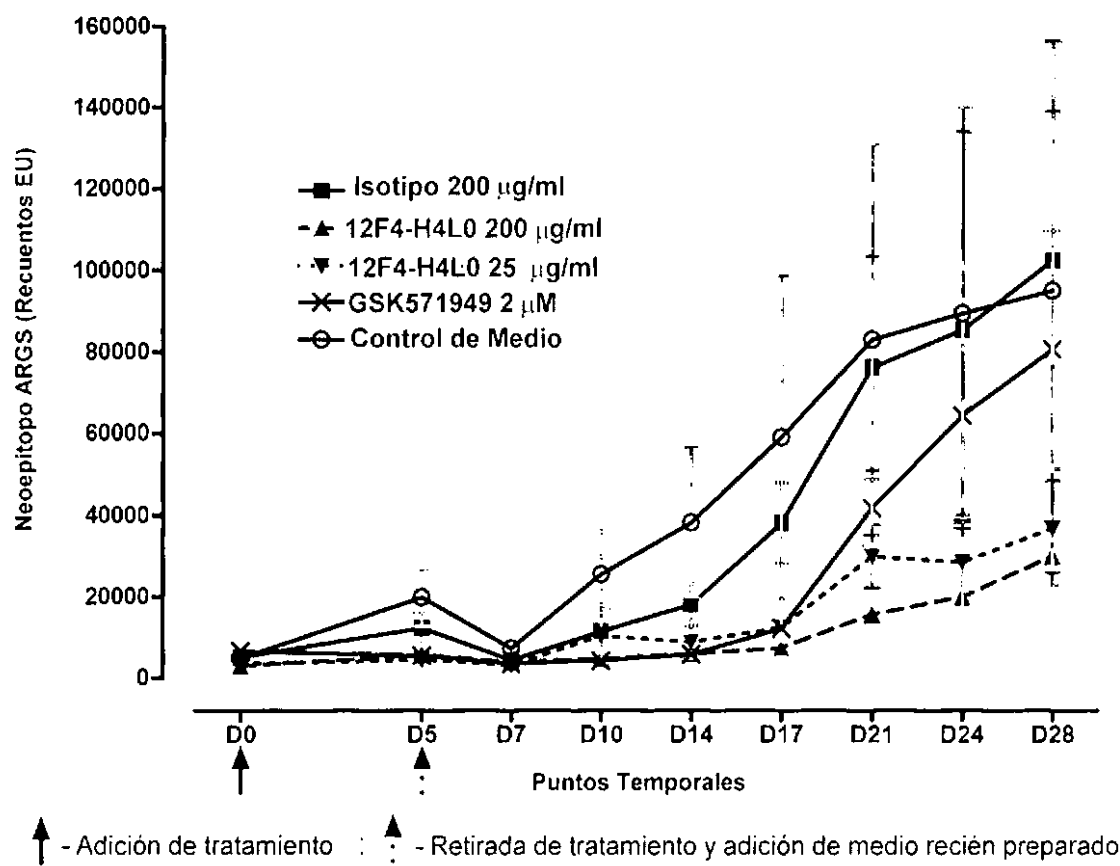
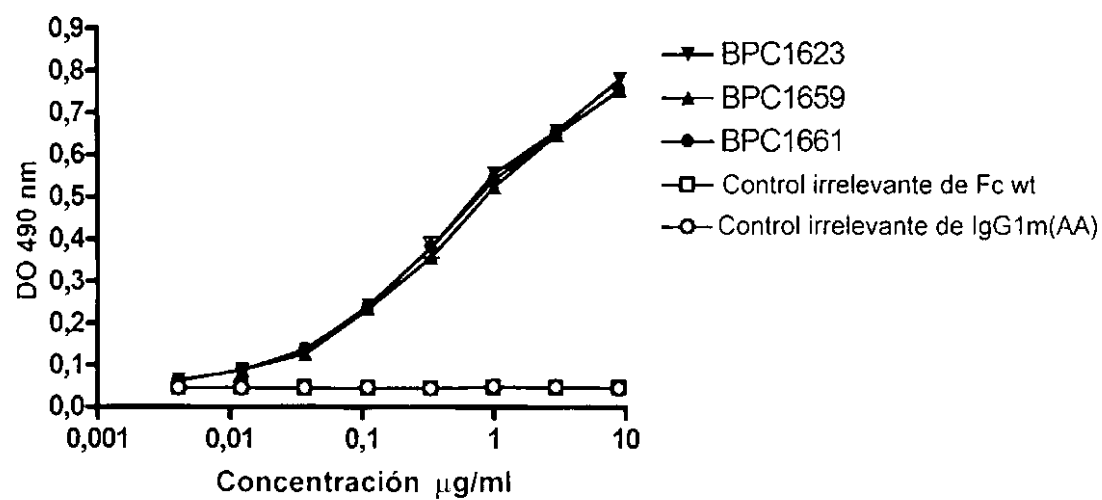


Figura 12



140

Figura 13

El modelado estructural predice los sitios de interacción de Ag/Ab

[illegible]

Listado de Secuencias

- SEQ ID NO: 1 --
ARGSVIL
- 5 SEQ ID NO:2
DAWMD
- 10 SEQ ID NO:3
EIRHKANDHAIFYXESVKG
- 15 SEQ ID NO:4
TYYYGSSYGYCDV
- 20 SEQ ID NO:5
PFAY
- 25 SEQ ID NO:6
KASQSVGTTIV
- 30 SEQ ID NO:7;
RTSENIYSYLA
- 35 SEQ ID NO:8
NAKTLAE
- 40 SEQ ID NO:9
SASNRXT
- 45 SEQ ID NO:10
QQYSSYPFT
- 50 SEQ ID NO:11
QHIIYGTPWT
- 55 SEQ ID NO:12
EIRHKANDHAIFYAESVKG
- 60 SEQ ID NO:13
EIRNKANNHARIHYAESVKG
- 65 SEQ ID NO:14
EIRHKANDYAIFYDESVKG
- 70 SEQ ID NO:15
EIRHKANDHAIFYDESVKG
- 75 SEQ ID NO:16

141

DIRNTANNHATFYAESVKG

SEQ ID NO:17
EIRHKANDHAIIFYDESVKG

5 SEQ ID NO:18
TYYYGSSYGYCDV

10 SEQ ID NO:19
KASQSVGTTIV

SEQ ID NO:20
RTSENIYSYLA

15 SEQ ID NO:21
KASQNVGTAVV

SEQ ID NO:22
NAKTLAE

20 SEQ ID NO:23
SASNRHT

SEQ ID NO:24
25 SASTRYT

SEQ ID NO:25
SASNRYT

30 SEQ ID NO:26
QQYSSYPFT

SEQ ID NO:27
QIIIIYGTPWT

35 SEQ ID NO:28
QQYVNYPFT

SEQ ID NO:29
40 QQYTSYPFT

Mayoría de la SEQ ID NO:30
EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRH
KANDHAIIFYXESVKGRFTISRDDSKSIVYLLQMNSLRPEDTGIYYCTSPFAY-----
45 -----WGQGTLVTVSA

Mayoría de la SEQ ID NO:31

DIVMTQSQKFMSVTVGDRVSITCKASQSVGTTIVWYQQKPGQSPKLLIYSASNRX
TGVPDRFTGSGSGTDFILTINNVQSEDLADYFCQQYSSYPFTFGSGTKLEIKRA

12F4.1H7VH.pro SEQ ID NO:32

5 EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCTASGFTFSDAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRH
KANDHAIFYDESVKGRFTISRDDSKNIVYLQMNSLRPEDTGIYYCTSPFAY-----
----WGQGTLVTVSA

1G10.1C9VH.pro SEQ ID NO:33

10 EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSAASGFNFSDAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRH
KANDHAIFYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTGIYYCTSPFAY-----
-----WGQGTLVTVSA

2D3.1D4VH.pro SEQ ID NO:34

15 EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSAASGITFSDAWMDWVRQSPEKGLEWVADIRN
TANNHATFYAESVKGRFTISRDDSKSTVYLQMNTLRPEDTGIYYCTSPFAY-----
-----WGQGTLVTVSA

20 3A12.1D7VH.pro SEQ ID NO:35

EVKFEESGGGLVQPGGSMKLSAASGFIFSDAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRH
KANDYAIFYDESVKGRFTISRDDSKSIVYLQMNNLRPEDTGIYYCTSPFAY-----
----WGQGTLVTVSA

25 5F10.1H6VH.pro SEQ ID NO:36

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSAASGFTFSDAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRH
KANDHAIFYDESVKGRFTISRDDSKSIVYLQMNSLRPEDTGIYYCTSPFAY-----
----WGQGTLVTVSA

30

7B4.1E11VH.pro SEQ ID NO:37

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSAASGFTSSDAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRN
KANNHARHYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDSGIYYCTRTYYYGSS
YGYCDVWGTGTTVTVSS

35

2D3.1D4VL.pro SEQ ID NO:38

DIVMTQSQKFMSITTVGDRVSITCKASQNVGTAVVWFQQKPGQSPKLLIYSASNR
YTRVPDRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCQQYVNYPFTFGSGTKLEIKRA

40 3A12.1D7VL.pro SEQ ID NO:39

DIVMTQSQKFMSVTVGDRVSITCKASQSVGTTIVWYQQKPGQSPKLLIYSASNRH
TGVPDRFTGSGSGTDFILTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPFTFGSGTKLEIKRA

5F10.1H6VL.pro SEQ ID NO:40

45 DIVMTQSQRFMSVTVGDRVSITCKASQSVGTTIVWYQQKPGQSPKLLIYSASTRY
TGVPDRFTGGGSGTDFILTINNVQSEDLADYFCQQYSSYPFTFGSGTKLEIKRA

7B4.1E11VL.pro SEQ ID NO:41

DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRTSENIYSYLAWYQQKQKSPQLLVYNAKTLA
EGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSIQPEDFGSYSCQHIIYGTPWTFGGGKLEIKRA

12F4.1H7VL.pro SEQ ID NO:42

5 DIVMTQSQKFMSVTVGDRVSITCKASQSVGTITIVWYQQKPGQSPKLLIYSASNRH
TGVDPDRFTGSGSGTDFILTINNVQSEDLADYFCQQYTSYPFTFGSGTKLEIKRA

SEQ ID NO:43

10 MLLGWASLLLCAFRLLPLAAVGPAATPAQDKAGQPPTAAAAAQQPR
RRQGEVQERAEPPIIPIPLAQRRRSKGLVQNIQQLYSGGGKVGYLVIYAGGRRF
LLDI
ERDGSVGIAGFVPAGGGTSAPWRIIRSHICFYRGTVDGSPRSIAVFDLCGGLDGGF
AVKII
ARYTLKPLL RGPWAEEEKGRVYGDGSARILHVYTRFGFSFEALPPRASCETPAST
15 PEA
HEHAPAHSNPSGRAALASQLLDQSALSPAGGSGPQTWWRRRRRSISRARQVELL
LVAD
ASMARLYGRGLQHYLLTLASIANRLYSHASIHENHIRLAVVKVVVLGDKDKSLEV
SKNA
20 ATTLKNFCKWQHQNQLGDDHIEEHYDAAILFTREDLCGHHSCDTLGMADVGTI
CSPER
SCAVIEDDGLHAAFTVAHEIGHLLGLSHDDSKFCEETFGSTEDKRLMSSILTSIDAS
K
PWSKCTSATITTEFLDDGHGNCLLDLPRKQILGPEELPGQTYDATQQCNLTFGPEYS
25 VC
PGMDVCARLWCAVVRQGMVCLTKKLPAVEGTPCGKGRICLQGKCVDKTKKK
YYSTSS
HGNWGSWGSWGQCSRSCGGGVQFAYRHCNNPAPRNNGRYCTGKRAIYRSCSL
MPCPPN
30 GKSRHEQCEAKNGYQSDAKGVKTFVEWVPKYAGVLPADVCKLTCRAKGTGY
YVVFSP
KVTGTECRLYSNSVCVRGKCVRTGCDGIHGSKLQYDKCGVCGGDNSSCTKIVG
TFNK
KSKGYTDVVRIPGATHIKVRQFKAKDQTRFTAYLALKKKNGEYLINGKYMISTS
35 ETI
IDINGTVMNYSGWSHRDDFLHGMGYSATKEILIVQILATDPTKPLDVRYSFVVPK
KST
PKVNSVTSHGSNKVGSHTSQPQWVTGPWLACSRCTCDTGWHTRTVQCQDGNRKL
AKGCP
40 LSQRPSAFKQCLLKKC

SEQ ID NO:44

MSQTGSJIPGR GLAGRWLWGA QPCLLIPIVP LSWLVWLLLL LLASLLPSAR
LASPLPREEE
45 IVFPEKLNGS VLPGSGAPAR LLCRLQAFGE TLLLELEQDS GVQVEGLTVQ
YLGQAPELLG

GAEPGTYLTG TINGDPESVA SLHWDGGALL GVLQYRGael HLQPLEGGTP
 NSAGGPGaHI
 LRRKSPASGQ GPMCnVKAPL GSPSPRRRA KRFASLSRFV ETLVVADDKM
 AAFHGAGLKR
 5 YLLTVMAAAA KAFKHPSIRN PVSLVVTRLV ILGSGEEGPQ VGPSAAQTLR
 SFCaWQRGLN
 TPEDSGPDHF DTAILFTRQD LCGVSTCDTL GMADVGTVCd PARSCAIVED
 DGLQSAFTAA
 HELGHVFNML HDNSKPCISL NGPLSTSRHV MAPVMAHVDP EEPWSPCSAR
 10 FITDFLDNGY
 GHCLLDKPEA PLHLPVTFPG KDYDADRQCQ LTFGPDSRHC PQLPPPCAAL
 WCSGHLNGHA
 MCQTKHSPA DGTPCGPAQA CMGGRCCLHMD QLQDFNIPQA GGWGPWGPWG
 DCSRTCgGGV
 15 QFSSRDCTRP VPRNGGKYCE GRRTRFRSCN TEDCPTGSAL TFREEQCAAY
 NHRTDLFKSF
 PGPMDWVPRY TGVAPQDQCK LTCQARALGY YYVLEPRVVD GTPCSPDSSS
 VCVQGRCIHA
 GCDRIIGSKK KFDKCMVCGG DGSGCSKQSG SFRKFRYGYN NVVTIPAGAT
 20 HILVRQQGNP
 GHRSIYLALK LPDGSYALNG EYTLMPSP¹¹TD VVLPGAVSLR YSGATAASET
 LSGHGPLAQp
 LTLQVLVAGN PQDTRLRYSF FVPRPTPSTP RPTPQDWLHR RAQILEILRR
 RPWAGRK

25

SEQ ID NO: 45 –
 ATGGGGCTGGTCCTGCATCA¹¹TCTGTTTCTGGTGGCCACCGCCACCGGGCGTGCA
 CAGC

30

SEQ ID NO: 46 –
 MGWSCII¹¹FLVATATGVHS

35

SEQ ID NO: 47 –
 GAAGTGAAGCTTGAGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTGCAACCTGGAGGATCCA
 TGAAACTCTCTTGTGCTGCCTCTGGATTCACTTCTAGTGACGCCTGGATGGAC
 TGGGTCCGCCAGTCTCCAGAAAAGGGGCTTGAGTGGGTGCTGAAATTAGAA
 ACAAAGCTAATAATCATGCAAGACACTATGCTGAGTCTGTGAAAGGGAGGTT
 40 CACCATCTCAAGAGATGATTCCAAAAGTAGTGTCTACCTGCAAATGAACAGC
 TTAAGAGCTGAAGACTCTGGCATT¹¹TACTGTACCAGGACGTATTATTACGG
 TAGCAGCTACGGATACTGCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACCGTC
 TCCTCA

45 SEQ ID NO: 48 –

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTSSDAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRN
KANNHARIHYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDSGIYYCTRITYYYGSS
YGYCDVWGTGTTVTVSS

5 SEQ ID NO: 49

GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCCCTATCTGCATCTGTGGGAGAAAC
TGTCACCATCACATGTCGAACAAGTGAGAATATTTACAGTTATTTAGCATGGT
ATCAGCAGAAACAGGGGAAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTATAATGCAAAAAC
10 CTTAGCAGAAAGGTGTGCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACACAG
TTTTCTCTGAAGATCAACAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGGGAGTTATTCCTG
TCAACATCATTTATGGTACTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAA
ATCAAA CGGGCT

15
SEQ ID NO: 50

DIQMTQSPASLSASVGETVTTTCRTSENIYSYLAWYQQKQKGKSPQLLVYNAKTLA
EGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSIQPEDFGSYSCQHIIYGTPWTFGGGTKLEIKRA

20
SEQ ID NO: 51

GAAGTGAAGCTTGAGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTGCAACCTGGAGGATCCA
TGAAACTCTCCTGTACTGCCITCCGGATTCACTTTTAGTGACGCCCTGGATGGAC
25 TGGGTCCGCCAGTCTCCAGAGAAGGGACTTGAGTGGGTGTGCTGAAATTAGAC
ACAAAGCTAATGATCATGCAATATTTTATGATGAGTCTGTGAAAGGGAGGTT
CACCATCTCAAGAGATGATTCCAAAAAATATTGTCTATCTGCAAATGAACAGTT
TAAGACCTGAGGACACCGGCATTTATTATTGTACCAGTCCTTTTGCTTATTGG
GGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

30
SEQ ID NO: 52

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCITASGFTFSDAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRH
KANDIIAIFYDESVKGRFTISRDDSKNIVYLQMNSLRPEDTGIYYCTSPFAYWGQG
35 TLVTVSA

SEQ ID NO: 53

GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCGTAAACAGTGGGAGACA
40 GGGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGGGAACCTACTATAGTCTG
GTATCAACAGAAACCAGGACAATCTCCTAAAATTACTGATTTACTCTGCATCCA
ATCGGCACACTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGA
TTTCATTCTCACCATTAAACAATGTGCAGTCTGAGGACCTGGCAGATTATTTCT
GTCAGCAATATACCTCCTATCCATTACGTTCCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAG
45 ATAAAA CGGGCT

SEQ ID NO: 54

DIVMTQSQKFMSVTVGDRVSITCKASQSVGTTIVWYQQKPGQSPKLLIYSASNRH
TGVPDRFTGSGSGTDFILTINNVQSEDLADYFCQQYTSYPFTFGSGTKLEIKRA

SEQ ID NO: 55

5

DAWMD

SEQ ID NO: 56

10 EIRNKANNHARHYAESVKG

SEQ ID NO: 57

TYYYGSSYGYCDV

15

SEQ ID NO: 58

RTSENIYSYLA

20 SEQ ID NO: 59

NAKTLAE

SEQ ID NO: 60

25

QHHYGTPWT

SEQ ID NO: 61

30 DAWMD

SEQ ID NO: 62

35 EIRHKANDHAIIFYDESVKG

SEQ ID NO: 63

PFAY

40

SEQ ID NO: 64

KASQSVGTTIV

45 SEQ ID NO: 65

SASNRHT

104

SEQ ID NO: 66

QQYTSYPFT

5 SEQ ID NO: 67

GAGGTGAAGCTGGAGGAATCAGGAGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCGGCAGC
ATGAAACTG
AGCTGCGCTGCCTCTGGCTTCACCAGCTCTGACGCCTGGATGGATTGGGTGAG
10 GCAGAGC
CCCGAGAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAACAAGGCCAACAAAC
CACGCCAGG
CACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGCAGGTTCACCATCAGCAGGGACGACAGC
AAGAGCTCC
15 GTGTACCTGCAGATGAACAGCCTCCGGGCCGAGGACAGCGGCATCTACTACT
GCACCAGG
ACCTACTACTACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGAACCGGCA
CACTAGTG
ACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCCA
20 GCAGCAAG
AGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC
CCGAACCG
GTGACCGTGTCTTGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC
CCGCCGTG
25 CTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCA
GCAGCCTG
GGCACCCAGACCTACATCTGTAACTGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGG
TGGACAAG
AAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCCCTG
30 CCCCCGAG
CTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCTCCCAAGCCTAAGGACACCTT
GATGATC
AGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACC
CTGAGGTG
35 AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAAATGCCAAGACCAAGC
CCAGGGAG
GAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACC
AGGATTGG
CTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAAGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCC
40 CTATCGAG
AAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACC
CTGCCCCCT
AGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGG
GCTICTAC
45 CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAAC
TACAAGACC
ACCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGAC
CGTGGAC

AAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTACAGCTGCTCCGTGATGCACGAGG
CCCTGCAC
AATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

5 SEQ ID NO: 68

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTSSDAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRN
KANNHARHYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDSGIYYCTRITYYGSS
YGYCDVWGTGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
10 VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK
VDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVM
15 HEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 69

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCGCCAGCCTGAGCGCAAGCGTGGGCGAGA
20 CCGTCACC
ATCACCTGCAGGACCAGCGAGAACATCTACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC
AGAAGCAG
GGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACAACGCCAAAACCTGGCCGAAGGCG
TGCCCTCT
25 AGGTTCAGCGGAAGCGGAAGCGGCACCCAGTTCAGCCTCAAGATCAACTCCC
TGCAGCCC
GAGGACTTCGGCAGCTACAGCTGCCAGCACCACTACGGCACTCCCTGGACCT
TTGGCGGC
GGCACCAAGCTGGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCT
30 TCCCCCCC
AGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCITGCTGAACA
ACTTCTAC
CCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGC
AACAGCCAG
35 GAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGC
ACCCTGACC
CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCC
ACCAGGGC
CTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC
40

SEQ ID NO: 70

DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRTSENIYSYLAWYQQKQKGKSPQLLVYNAKTLA
EGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSIQPEDFGSYSCQHGYGTPWTFGGGTKLEIKRTVA
45 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRQAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSITLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 71

AS

GAGGTGAAACTGGAGGAAAGCGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCCGGCGGCTCA
 ATGAAGCTG
 AGCTGCACCGCCAGCGGCTTCACCTTCTCTGACGCCTGGATGGACTGGGTGAG
 5 GCAGAGC
 CCGAGAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCTGAGATCAGGCACAAGGCCAACGAC
 CACGCCATC
 TTCTACGACGAGAGCGTGAAGGGCAGGTTCACCATCAGCAGGGACGACAGCA
 AGAACATC
 10 GTGTACCTCCAGATGAACAGCCTGAGGCCCCGAGGATACCGGCATCTACTACT
 GCACCAGC
 CCCTTTGCCATTGTTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCAC
 CAAGGGC
 CCCAGCGTGTTCCTTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAG
 15 CCGCCCTG
 GGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCTTGAACA
 GCGGAGCC
 CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGT
 ACAGCCTG
 20 AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCT
 GTAACGTG
 AACCAACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGC
 TGTGACAAG
 ACCCACACCTGCCCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGT
 25 GTTCCTG
 TTCCCCCCCCAAGCCTAAGGACACCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGA
 CCTGTGTG
 GTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGG
 ACGGCGTG
 30 GAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACC
 TACCGGGTG
 GTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACA
 AGTGTAAG
 GTGTCCAACAAGGCCCTGCCCTGCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCA
 35 AGGGCCAG
 CCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCTTCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCA
 AGAACCAAG
 GTGTCCCTGACCTGCCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGA
 GTGGGAG
 40 AGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACA
 GCGATGGC
 AGCTTCTTCCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGG
 GCAACGTG
 TTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGA
 45 GCTTGAGC
 CTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 72

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCITASGFTFSDAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRH
KANDHAIFYDESVKGRFTISRDDSKNIVYLQMNSLRPEDTGIYYCTSPFAYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
5 GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPIENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT
10 QKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 73

GACATCGTGATGACCCAGAGCCAGAAATTCATGAGCGTGACCGTGGGCGACA
15 GGGTGTCC
ATCACTTGCAAGGCCAGCCAGAGCGTGGGCACCACTATCGTGTGGTACCAGC
AGAAGCCC
GGCCAGAGCCCCAAGCTCCTGATCTACAGCGCCAGCAACAGGCACACCGGAG
TGCCCCGAC
20 AGGTTTACTGGCAGCGGCTCAGGCACCGACTTCATCCTGACCATCAACAACGT
GCAGAGC
GAGGACCTGGCCGATTACTTCTGCCAGCAGTACACCAGCTACCCCTTCACCTT
CGGCTCA
GGGACCAAGCTGGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCT
25 TCCCCCCC
AGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACA
ACTTCTAC
CCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGC
AACAGCCAG
30 GAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGC
ACCCCTGACC
CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCC
ACCAGGGC
CTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC
35

SEQ ID NO: 74

DIVMTQSQKFMSVTVGDRVSITCKASQSVGTTIVWYQQKPGQSPKLLIYSASNRH
TGVPDRFTGSGSGTDFILTINNVQSEDLADYFCQQYTSYPFTFGSGTKLEIKRTVA
40 APSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 75

GAGGTGAAGCTGGAGGAATCAGGAGGCGGACTGGTGCAGCCCCGGCGGCAGC
ATGAAACTGAGCTGCGCTGCCTCTGGCTTCACCAGCTCTGACGCCTGGATGGA
TTGGGTGAGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAG
GAACAAGGCCAACAACCAAGCCAGGCACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGCAG

G'ITCACCAT'CAGCAGGGACGACAGCAAGAGCTCCGTGTACCTGCAGATGAAC
AGCCTCCGGGCCGAGGACAGCGGCATCTACTACTGCACCAGGACCTACTACT
ACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGAACCGGCACACTAGTCAC
CGTGAGCAGC

5

SEQ ID NO: 76

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTSSDAWMDWVRQSPEKGLEWVVAEIRN
KANNHARIHYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDSGIYYCTRTYYYGSS
YGYCDVWGTGTLVTVSS

10

SEQ ID NO: 77

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCGCCAGCCTGAGCGCAAGCGTGGGCGAGA
CCGT'CACCATCACCTGCAGGACCAGCGAGAACA'TCTACAGCTACCTGGCCTG
GTATCAGCAGAAAGCAGGGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGT'ACAACGCCAAA
ACCC'TGGCCGAAGGCGTGCCCTCTAGG'ITCAGCGGAAGCGGAAGCGGCACCC
AG'ITCAGCCTCAAGATCAACTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGGCAGCTACAG
CTGCCAGCACCCTACGGCACTCCCTGGACCTTTGGCGGCGGCACCAAGCTG
GAGATTAAGCGTACG

15

20

SEQ ID NO: 78

DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRTSENIYSYLAWYQQKQKGKSPQLLVYNAKTLA
EGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYSCQIIHYGTPWTFGGGTKLEIKRT

25

SEQ ID NO: 79

GAGGTGAAACTGGAGGAAAGCGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCCGGCGGCTCA
ATGAAGCTGAGCTGCACCGCCAGCGGCTTCACCTTC'TCTGACGCCTGGATGGA
CTGGGTGAGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCTGAGATCAG
GCACAAGGCCAACGACCACGCCATCTTCTACGACGAGAGCGTGAAGGGCAGG
TTCACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACA'TCGTGTACCTCCAGATGAACA
GCCTGAGGCCCCGAGGATACCGGCATCTACTACTGCACCAGCCCCCTTGCCTAT
TGGGGCCAGGGCACACTAGTCAACCGTGTCCAGC

30

35

SEQ ID NO: 80

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCTASGFTFSDAWMDWVRQSPEKGLEWVVAEIRH
KANDHAIFYDESVKGRFTISRDDSKNIVYLMNSLRPEDTGIYYCTSPFAYWGQG
TLVTVSS

40

SEQ ID NO: 81

GACATCGTGATGACCCAGAGCCAGAAATTCA'TGAGCGTGACCGTGGGCGACA
GGGTGTCCATCACTTGCAAGGCCAGCCAGAGCGTGGGCACCACTATCGTGTG
GTACCAGCAGAAAGCCCCGCCAGAGCCCCAAGCTCCTGATCTACAGCGCCAGC

45

AACAGGCACACCGGAGTGCCCGACAGGTTTACTGGCAGCGGCTCAGGCACCG
ACTTCATCCTGACCATCAACAACGTGCAGAGCGAGGACCTGGCCGATTACTTC
TGCCAGCAGTACACCAGCTACCCCTTCACCTTCGGCTCAGGGACCAAGCTGG
AGATTAAGCGTACG

5

SEQ ID NO: 82

DIVMTQSQKFMSVTVGDRVSITCKASQSVGTTIVWYQQKPGQSPKLLIYSASNRH
TGVPDRFTGSGSGTDFILTINNVQSEDLADYFCQYTSYPFTFGSGTKLEIKRT

10

SEQ ID NO: 83

GAGGTGCAGCTGGTTCGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGAGGCAGC
CTCAGGCTG

15

TCTTGCGCTGCCTCCGGCTTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGAG
GCAGGCC

CCCGGCAAAGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAACAAGGCCAACAAC
CACGCCAGG

20

CAC TACGCCGAGAGCGTGAAGGGGAGGTTACCATCAGCAGGGACAACGCC
AAGAACAGC

CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
GCGCCCGG

ACCTACTACTACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGCCAGGGCA
CACTAGTG

25

ACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCCA
GCAGCAAG

AGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC
CCGAACCG

30

GTGACCGTGTCTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC
CCGCCGTG

CTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCA
GCAGCCTG

GGCACCAGACCTACATCTGTAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGG
TGGACAAG

35

AAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCCTG
CCCCCGAG

CTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCCAAGCCTAAGGACACCC
GATGATC

40

AGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACC
CTGAGGTG

AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGC
CCAGGGAG

GAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACC
AGGATTGG

45

CTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCC
CTATCGAG

AAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACC
CTGCCCCCT

AGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCCTGGTGAAGG
 GCTTCTAC
 CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAAC
 TACAAGACC
 5 ACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGAC
 CGTGGAC
 AAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGG
 CCCTGCAC
 AATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCTGGCAAG

10
SEQ ID NO: 84

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRN
 KANNIARHYAESVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTYYYGS
 15 SYGYCDVWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
 TVSWNSGALTSGVITFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNIHKPSNT
 KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
 VSHIEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
 EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF
 20 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTITPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS
 VMHEALINHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 85

25 GAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGAGGCAGC
 CTCAGGCTG
 TCTTGCGCTGCCTCCGGCTTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGAG
 GCAGGCC
 CCCGGCAAAGGCCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAACAAGGCCAACAAC
 30 CACGCCAGG
 CACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGGAGGTTCACCATCAGCAGGGACAACGCC
 AAGAACAGC
 CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
 GCACCCGG
 35 ACCTACTACTACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGCCAGGGCA
 CACTAGTG
 ACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGGCCCCCA
 GCAGCAAG
 AGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC
 40 CCGAACCG
 GTGACCGTGTCTTGGAAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC
 CCGCCGTG
 CTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGAACCGTGCCCAGCA
 GCAGCCTG
 45 GGCACCCAGACCTACATCTGTAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGG
 TGGACAAG
 AAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCCCTGCCCTG
 CCCCCGAG

CTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCGTGTTCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCCT
 GATGATC
 AGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACC
 CTGAGGTG
 5 AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGC
 CCAGGGAG
 GAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACC
 AGGATTGG
 CTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCC
 10 CTATCGAG
 AAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACC
 CTGCCCCCT
 AGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGG
 GCTTCTAC
 15 CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCCGAGAACAAC
 TACAAGACC
 ACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGAC
 CGTGGAC
 AAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGG
 20 CCGTGCAC
 AATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 86

25 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRN
 KANNHARHYAESVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRTYYYGS
 SYGYCDVWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPV
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
 KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
 30 VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
 EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS
 VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

35 SEQ ID NO: 87

GAGGTGCAGCTGGTTCGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGAGGCAGC
 CTCAGGCTG
 TCTTGCGCTGCCTCCGGCTTCACCAGCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGAG
 40 GCAGGCC
 CCCGGCAAAGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAACAAGGCCAACAAC
 CACGCCAGG
 CACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGGAGGTTACCATCAGCAGGGACAACGCC
 AAGAACAGC
 45 CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
 GCGCCCGG
 ACCTACTACTACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGCCAGGGCA
 CACTAGTG

ACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTTGGCCCCCA
 GCAGCAAG
 AGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC
 CCGAACCG
 5 GTGACCGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC
 CCGCCGTG
 CTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCA
 GCAGCCTG
 GGCACCCAGACCTACATCTGTAACTGAACCAAGCCCAGCAACACCAAGG
 10 TGGACAAG
 AAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCCCTGCCCTG
 CCCCCGAG
 CTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCTTCCCCCAAGCCTAAGGACACCT
 GATGATC
 15 AGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACC
 CTGAGGTG
 AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAAATGCCAAGACCAAGC
 CCAGGGAG
 GAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACC
 20 AGGATTGG
 CTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCC
 CTATCGAG
 AAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACC
 CTGCCCCCT
 25 AGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGG
 GCTTCTAC
 CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAAC
 TACAAGACC
 ACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGAC
 30 CGTGGAC
 AAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTTACGCTGCTCCGTGATGCACGAGG
 CCCTGCAC
 AATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCTGGCAAG

35 SEQ ID NO: 88

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRN
 KANNHARIHYAESVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTYYYGS
 SYGYCDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPV
 40 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
 KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
 VSHEDPEVKFNWYVDGVEVIINAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
 EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
 45 VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 89

GAGGTGCAGCTGGTTCGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGAGGCAGC
 CTCAGGCTG
 TCTTGCGCTGCCITCCGGCTTCACCAGCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGAG
 GCAGGCC
 5 CCCGGCAAAGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAACAAGGCCAACAAC
 CACGCCAGG
 CACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGGAGGTTACCATCAGCAGGGACAACGCC
 AAGAACAGC
 CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
 10 GCACCCGG
 ACCTACTACTACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGCCAGGGCA
 CACTAGTG
 ACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGGCCCCCA
 GCAGCAAG
 15 AGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC
 CCGAACCG
 GTGACCGTGTCCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC
 CCGCCGTG
 CTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCA
 20 GCAGCCTG
 GGCACCCAGACCTACATCTGTAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGG
 TGGACAAG
 AAGGTGGAGCCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCCTG
 CCCCCGAG
 25 CTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCCAAGCCTAAGGACACCC
 GATGATC
 AGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACC
 CTGAGGTG
 AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGC
 30 CCAGGGAG
 GAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACC
 AGGATTGG
 CTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCC
 CTATCGAG
 35 AAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACC
 CTGCCCCCT
 AGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGG
 GCTTCTAC
 CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCCGAGAACAAC
 40 TACAAGACC
 ACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGAC
 CGTGGAC
 AAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTACGCTGCTCCGTGATGCACGAGG
 CCCTGCAC
 45 AATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 90

149

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRN
 KANNIARHYAESVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAIEDTAVYYCTRYYYGS
 SYGYCDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPV
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
 5 KVDKKVEPKSCDKTHITCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
 VSHEDPEVKFNWYVDGVEVIINAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLIIQDWLNGK
 EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKITVDKSRWQQGNVFS
 VMIEALHNHYTQKSLSLSPGK
 10
 SEQ ID NO: 91

 GAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGCGGCGGCCCTGGTGCAGCCCGGAGGCAGC
 CTCAGGCTG
 15 TCTTGCCTGCGCTGCCCTCCGGCTTCACCAGCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGAG
 GCAGGCC
 CCCGGCAAAGGCCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAACAAGGCCAACAAAC
 CACGCCAGG
 CACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGGAGGTTACCATCAGCAGGGACGACGCC
 20 AAGAACAGC
 CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
 GCACCCCG
 ACCTACTACTACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGCCAGGGCA
 CACTAGTG
 25 ACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGGCCCCCA
 GCAGCAAG
 AGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC
 CCGAACCG
 GTGACCGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC
 30 CCGCCGTG
 CTGCAGAGCAGCGGCCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCA
 GCAGCCTG
 GGCACCCAGACCTACATCTGTAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGG
 TGGACAAG
 35 AAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCCTGCCCTG
 CCCCCGAG
 CTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTCTCTGTCCCCCCCCAAGCCTAAGGACACCT
 GATGATC
 AGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACC
 40 CTGAGGTG
 AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGC
 CCAGGGAG
 GAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACC
 AGGATTGG
 45 CTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCC
 CTATCGAG
 AAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACC
 CTGCCCCCT

AGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGG
GCTTCTAC
CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAAC
TACAAGACC
5 ACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGAC
CGTGGAC
AAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGG
CCCTGCAC
AATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

10

SEQ ID NO: 92

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRN
KANNHARIHYAESVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRTYYYGS
15 SYGYCDVWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF
20 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS
VMHEALINHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 93

25 GAGGTGCAGCTGGTTCGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGAGGCAGC
CTCAGGCTGTCTTGCGCTGCCCTCCGGCTTCACCAGCAGCGACGCCTGGATGGA
TTGGGTGAGGCAGGCCCGGCAAAGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGG
AACAAGGCCAACAACCACGCCAGGCACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGGAGG
TTCACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAGCGTCTACCTGCAGATGAACA
30 GCCTGAGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTACTGCACCCGGACCTACTACTA
CGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACC
GTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGGCCCCCAGCA
GCAAGAGCACCCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTA
CTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGC
35 GTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCA
GCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAA
CGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCCAA
GAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGG
GAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATC
40 AGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACC
CTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAA
GACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTG
CTGACCGTGTGTCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAAG
TGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAA
45 GGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAG
CTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCA
GCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACACTACA
AGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAG

CTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCTCCG
TGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTC
CCCTGGCAAG

5 SEQ ID NO: 94

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRN
KANNHARIHYAESVKGRFTISRDNAKNSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRTYYYGS
SYGYCDVWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPV
10 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
KVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS
15 VMHEALHINHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 95

GAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGAGGCAGC
20 CTCAGGCTG
TCTTGCGCTGCCTCCGGCTTCACCAGCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGAG
GCAGGCC
CCCGGCAAAGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAACAAGGCCAACAAC
CACGCCAGG
25 CACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGGAGGTTACCATCAGCAGGGACGACGCC
AAGAACAGC
GTCTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
GCACCCGG
ACCTACTACTACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGCCAGGGCA
30 CACTAGTG
ACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGGCCCCCA
GCAGCAAG
AGCACCAAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC
CCGAACCG
35 GTGACCGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC
CCGCCGTG
CTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGAACCGTGCCCAGCA
GCAGCCTG
GGCACCCAGACCTACATCTGTAAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGG
40 TGGACAAG
AAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCCTG
CCCCCGAG
CTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCCAAGCCTAAGGACACCT
GATGATC
45 AGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACC
CTGAGGTG
AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGC
CCAGGGAG

GAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACC
AGGATTGG
CTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCC
CTATCGAG
5 AAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACC
CTGCCCCCT
AGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGG
GCTTCTAC
CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCCGAGAACAAC
10 TACAAGACC
ACCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGAC
CGTGGAC
AAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGG
CCCTGCAC
15 AATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 96

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRN
20 KANNHARHYAESVKGRFTISRDDAKNSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRTYYYGS
SYGYCDVWGQGTFLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
25 EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 97

30 GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCTAGCGTGGGCGACA
GGGTGACC
ATCACCTGCAGGACCTCCGAGAACATCTACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC
AGAAACCC
35 GGCAAGGCCCCCAAGCTCCTGATCTACAACGCCAAGACACTGGCCGAGGGCG
TGCCCAGC
AGGTTCTCAGGCAGCGGCTCTGGGACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCT
GCAGCCC
GAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACCACTACGGAACCCCCTGGACCTT
40 CGGCCAG
GGCACCAAGCTGGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCACTCT
TCCCCCCC
AGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACA
ACTTCTAC
45 CCCCAGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGC
AACAGCCAG
GAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGC
ACCCTGACC

CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCC
ACCAGGGC
CTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

5 SEQ ID NO: 98

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSENIYSYLAWYQQKPGKAPKLLIYNAKTLAE
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQIIHYGTPWTFGQGTKLEIKRTVAA
PSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
10 SKDSTYSLSSLTTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 99

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCTAGCGTGGGCGACA
15 GGGTGACC
ATCACCTGCAGGACCTCCGAGAACATCTACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC
AGAAACCC
GGCAAGGCCCCCAAGCTCCTGGTGTACAACGCCAAGACACTGGCCGAGGGCG
TGCCAGC
20 AGGTTCTCAGGCAGCGGCTCTGGGACCGACTTCACCCTGACCAATCAGCAGCCT
GCAGCCC
GAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACCCTACGGAACCCCCCTGGACCTT
CGGCCAG
GGCACCAAGCTGGAGATTAAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCT
25 TCCCCCCC
AGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACA
ACTTCTAC
CCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAAATGCCCTGCAGAGCGGC
AACAGCCAG
30 GAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGC
ACCCTGACC
CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCC
ACCAGGGC
CTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

35

SEQ ID NO: 100

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSENIYSYLAWYQQKPGKAPKLLVYNAKTLA
EGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHIIHYGTPWTFGQGTKLEIKRTVA
40 APSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSLTTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 101

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCTAGCGTGGGCGACA
45 GGGTGACC
ATCACCTGCAGGACCTCCGAGAACATCTACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC
AGAAACCC

GGCAAGGCCCCCAGCTCCTGGTGTACAACGCCAAGACACTGGCCGAGGGCG
TGCCCAGC
AGGTTCTCAGGCAGCGGCTCTGGGACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCT
GCAGCCC
5 GAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACCACTACGGAACCCCCCTGGACCTT
CGGCCAG
GGCACCAAGCTGGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCT
TCCCCCCC
AGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACA
10 ACTTCTAC
CCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGC
AACAGCCAG
GAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGC
ACCCTGACC
15 CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCC
ACCAGGGC
CTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGGCGAGTGC

SEQ ID NO: 102

20 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSENIYSYLAWYQQKPGKAPQLLVYNAKTLA
EGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHYGTPWTFGQGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

25
SEQ ID NO: 103

GAGGTGCAGCTCCTGGAGAGCGGCGGGGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC
TGAGACTG
30 AGCTGCGCCGCAAGCGGCTTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGA
GGCAGGCC
CCCGGCAAAAGGACTGGAGTGGGTGAGCGAGATCAGGCACAAGGCCAACGAC
CACGCCATC
TTCTACGACGAGAGCGTGAAGGGCAGGTTACCATCTCCAGGGACAACAGCA
35 AGAACACC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAAGACACCGCTGTGTACTACT
GCGCCAAG
CCCTTTGCCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCA
CCAAGGGC
40 CCCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAG
CCGCCCTG
GGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCTTGGAAACA
GCGGAGCC
CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGT
45 ACAGCCTG
AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCT
GTAACGTG

AACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGGTGGAGCCCCAAGAGC
 TGTGACAAG
 ACCCACACCTGCCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGT
 GTTCCTG
 5 TTCCCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGA
 CCTGTGTG
 GTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGG
 ACGGCGTG
 GAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACC
 10 TACCGGGTG
 GTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACA
 AGTGTAAG
 GTGTCCAACAAGGCCCTGCCCTGCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCA
 AGGGCCAG
 15 CCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCA
 AGAACCAAG
 GTGTCCCTGACCTGCCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGA
 GTGGGAG
 AGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACA
 20 GCGATGGC
 AGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGG
 GCAACGTG
 TTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGA
 GCCTGAGC
 25 CTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 104

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLEWVSEIRH
 30 KANDHAIFYDESVKGRFTISRDNŠKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPFAYWG
 QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNIHKPSNTKVDKKVEPKS
 CDKTHITCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
 NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
 35 LPAPIEKTKAKAGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHFALINHY
 TQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 105

40 GAGGTGCAGCTCCTGGAGAGCGGCGGGGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC
 TGAGACTG
 AGCTGCGCCGCAAGCGGCTTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGA
 GGCAGGCC
 45 CCCGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGAGCGAGATCAGGCACAAGGCCAACGAC
 CACGCCATC
 TTCTACGACGAGAGCGTGAAGGGCAGGTTACCATCTCCAGGGACAACAGCA
 AGAACACC

CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAAGACACCGCTGTGTACTACT
 GCACCAGC
 CCCTTTGCCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCA
 CCAAGGGC
 5 CCCAGCGTGTTCCTTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAG
 CCGCCCTG
 GGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCTTGGAACA
 GCGGAGCC
 CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGT
 10 ACAGCCTG
 AGCAGCGTGGTGAACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCT
 GTAACGTG
 AACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGC
 TGTGACAAG
 15 ACCCACACCTGCCCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGT
 GTTCTG
 TCCCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGA
 CCTGTGTG
 GTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGG
 20 ACGGCGTG
 GAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACC
 TACCGGGTG
 GTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACA
 AGTGTAAAG
 25 GTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCA
 AGGGCCAG
 CCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCA
 AGAACCAG
 GTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGA
 30 GTGGGAG
 AGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACA
 GCGATGGC
 AGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGG
 GCAACGTG
 35 TTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGA
 GCCTGAGC
 CTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 106

40 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLEWVSEIRH
 KANDHAIFYDESVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTSPFAYWGQ
 GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
 SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
 45 CDKTHITCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
 NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
 LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES

NGQPENNYKTTTPVLDSDFSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMIEALINITY
TQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 107

5
GAGGTGCAGCTCCTGGAGAGCGGCGGGGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC
TGAGACTG
AGCTGCGCCGCAAGCGGCTTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGA
GGCAGGCC
10 CCCGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGAGCGAGATCAGGCACAAGGCCAACGAC
CACGCCATC
TTCTACGACGAGAGCGTGAAGGGCAGGTTACCATCTCCAGGGACGACAGCA
AGAACACC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAAGACACCGCTGTGTACTACT
15 GCACCAGC
CCCTTTGCCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCA
CCAAGGGC
CCCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCGCGGCGGCACAG
CCGCCCTG
20 GGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCTGGAACA
GCGGAGCC
CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGT
ACAGCCTG
AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCT
25 GTAACGTG
AACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGGTGGAGCCCCAAGAGC
TGTGACAAG
ACCCACACCTGCCCCCCTGCCCTGCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGT
GTTCTCTG
30 TTCCCCCCCCAAGCCTAAGGACACCTTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGA
CCTGTGTG
GTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGG
ACGGCGTG
GAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACC
35 TACCGGGTG
GTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACA
AGTGTAAG
GTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCA
AGGGCCAG
40 CCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCA
AGAACCAG
GTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGA
GTGGGAG
AGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACACAAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACA
45 GCGATGGC
AGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGG
GCAACGTG

TTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGA
GCCTGAGC
CTGTCCCCCTGGCAAG

5 SEQ ID NO: 108

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLEWVSEIRH
KANDHAIFYDESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTSPFAYWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
10 SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHITCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY
15 TQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 109

GAGGTGCAGCTCCTGGAGAGCGGCGGGGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC
20 TGAGACTG
AGCTGCGCCGCAAGCGGCTTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGA
GGCAGGCC
CCCGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGCGCCGAGATCAGGCACAAGGCCAACGAC
CACGCCATC
25 TTCTACGACGAGAGCGTGAAGGGCAGGTTACCATCTCCAGGGACAACAGCA
AGAACACC
GTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAAGACACCGCTGTGTACTACT
GCACCAGC
CCCTTTGCCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCA
30 CCAAGGGC
CCCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCGCGGCGGCACAG
CCGCCCTG
GGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCTTGGAAACA
GCGGAGCC
35 CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCGCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGT
ACAGCCTG
AGCAGCGTGGTGAACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCT
GTAACGTG
AACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGC
40 TGTGACAAG
ACCCACACCTGCCCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGT
GTTCCCTG
TTCCCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGA
CCTGTGTG
45 GTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGG
ACGGCGTG
GAGGTGCACAAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACC
TACCGGGTG

27/41

154

GTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACA
 AGTGTAAAG
 GTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCA
 AGGGCCAG
 5 CCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCA
 AGAACCAG
 GTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGA
 GTGGGAG
 AGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACA
 10 GCGATGGC
 AGCTTCTTCCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGG
 GCAACGTG
 TTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGA
 GCCTGAGC
 15 CTGTCCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 110

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRH
 20 KANDIIAIFYDESVKGRFTISRDN SKNTVY LQMNSLR AEDTAVYYCTSPFAYWGQ
 GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
 SGVIITFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNIHKPSNTKVDKKVEPKS
 CDKTHITCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
 NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
 25 LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMIEALHNIY
 TQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 111

30 GAGGTGCAGCTCCTGGAGAGCGGCGGGGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC
 TGAGACTG
 AGCTGCGCCGCAAGCGGCTTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGA
 GGCAGGCC
 35 CCCGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGCGCCGAGATCAGGCACAAGGCCAACGAC
 CACGCCATC
 TTCTACGACGAGAGCGTGAAGGGCAGGTTACCATCTCCAGGGACGACAGCA
 AGAACACC
 GTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAAGACACCGCTGTGTACTACT
 40 GCACCAGC
 CCCTTTGCCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCA
 CCAAGGGC
 CCCAGCGTGTTCCTTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAG
 CCGCCCTG
 45 GGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCTTGGAAACA
 GCGGAGCC
 CTGACCAGCGGCGTGACACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGT
 ACAGCCTG

AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCT
GTAACGTG
AACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGC
TGTGACAAG
5 ACCCACACCTGCCCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGT
GTTCCCTG
TTCCCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGA
CCTGTGTG
GTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGG
10 ACGGCGTG
GAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACC
TACCGGGTG
GTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACA
AGTGTAAAG
15 GTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCA
AGGGCCAG
CCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCA
AGAACCAG
GTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGA
20 GTGGGAG
AGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACA
GCGATGGC
AGCTTCTTCCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGG
GCAACGTG
25 TTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGA
GCCTGAGC
CTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 112

30 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRH
KANDHAIIFYDESVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCTSPFAYWQQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
35 CDKTHITCPPCPAPELJGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK

40

SEQ ID NO: 113

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTCAAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACA
GGGTGACC
45 ATTACCTGCAAGGCCAGCCAGAGCGTCGGCACCACCATCGTGTGGTACCAGC
AGAAACCC
GGCAAGGCCCCCAAGCTCCTGATCTACAGCGCCAGCAACAGGCACACCGGCG
TGCCTAGC

AGGTTTAGCGGAAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCC
TGCAGCCC
GAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACACCAGCTATCCCTTCACCTT
CGGCCAG
5 GGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCT
TCCCCCCC
AGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACA
ACTTCTAC
CCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGC
10 AACAGCCAG
GAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGC
ACCTGACC
CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCC
ACCAGGGC
15 CTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

SEQ ID NO: 114

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVGTTIVWYQQKPGKAPKLLIYSASNRIIT
20 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYTSYPFTFGQGTKLEIKRTVAAP
SVFIHPPSDEQLKSGTASVVCLLNIFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 115

25 GAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGCGGCGGCCCTGGTGCAGCCCGGAGGCAGC
CTCAGGCTG
TCTTGCGCTGCCTCCGGCTTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGAG
GCAGGCC
30 CCCGGCAAAGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAACAAGGCCAACAAC
CACGCCAGG
CACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGGAGGTTACCATCAGCAGGGGACAACGCC
AAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
35 GCGCCCCG
ACCTACTACTACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGCCAGGGCA
CACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 116

40 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRN
KANNIHARIHYAESVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTYYYGS
SYGYCDVWGQGTILVTVSS

45 SEQ ID NO: 117

GAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGCGGCGGCCCTGGTGCAGCCCGGAGGCAGC
CTCAGGCTG

TCTTGCGCTGCCTCCGGCTTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGAG
GCAGGCC
CCCGGCAAAGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAACAAGGCCAACAAC
CACGCCAGG
5 CACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGGAGGTTACCATCAGCAGGGACAACGCC
AAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
GCACCCGG
ACCTACTACTACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGCCAGGGCA
10 CACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 118

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRN
15 KANNHARHYAESVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRTYYYGS
SYGYCDVWGQGTILVTVSS

SEQ ID NO: 119

20 GAGGTGCAGCTGGTTCGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGAGGCAGC
CTCAGGCTG
TCTTGCGCTGCCTCCGGCTTCACCAGCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGAG
GCAGGCC
CCCGGCAAAGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAACAAGGCCAACAAC
25 CACGCCAGG
CACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGGAGGTTACCATCAGCAGGGACAACGCC
AAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
GCGCCCGG
30 ACCTACTACTACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGCCAGGGCA
CACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 120

35 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRN
KANNHARHYAESVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTYYYGS
SYGYCDVWGQGTILVTVSS

SEQ ID NO: 121

40 GAGGTGCAGCTGGTTCGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGAGGCAGC
CTCAGGCTG
TCTTGCGCTGCCTCCGGCTTCACCAGCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGAG
GCAGGCC
45 CCCGGCAAAGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAACAAGGCCAACAAC
CACGCCAGG
CACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGGAGGTTACCATCAGCAGGGACAACGCC
AAGAACAGC

CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
GCACCCGG
ACCTACTACTACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGCCAGGGCA
CACTAGTGACCGTGTCCAGC

5

SEQ ID NO: 122

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRN
KANNHARHYAESVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRITYYGS
SYGYCDVWGQGTLVTVSS

10

SEQ ID NO: 123

GAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCCGAGGCAGC
15 CTCAGGCTG
TCTTGCGCTGCCTCCGGCTTCACCAGCAGCGACGCCCTGGATGGATTGGGTGAG
GCAGGCC
CCCGGCAAAGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAACAAGGCCAACAAC
CACGCCAGG
20 CACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGGAGGTTACCATCAGCAGGGACGACGCC
AAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
GCACCCGG
ACCTACTACTACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGCCAGGGCA
25 CACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 124

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRN
30 KANNHARHYAESVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRITYYGS
SYGYCDVWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 125

GAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCCGAGGCAGC
35 CTCAGGCTG
TCTTGCGCTGCCTCCGGCTTCACCAGCAGCGACGCCCTGGATGGATTGGGTGAG
GCAGGCC
CCCGGCAAAGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAACAAGGCCAACAAC
40 CACGCCAGG
CACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGGAGGTTACCATCAGCAGGGACAACGCC
AAGAACAGC
GTCTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
GCACCCGG
45 ACCTACTACTACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGCCAGGGCA
CACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 126

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRN
KANNHARHYAESVKGRFTISRDNKNSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRTYYYGS
SYGYCDVWGQGTTLTVSS

5

SEQ ID NO: 127

GAGGTGCAGCTGGTTCGAAAGCGGCGGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGAGGCAGC
CTCAGGCTG

10

TCTTGCGCTGCCITCCGGCTTCACCAGCAGCGACGCCTGGATGGAATTGGGTGAG
GCAGGCC

CCCGGCAAAGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAACAAGGCCAACAAC
CACGCCAGG

CACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGGAGGTTTACCATCAGCAGGGACGACGCC
AAGAACAGC

15

GTCTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
GCACCCGG

ACCTACTACTACGGGAGCAGCTACGGCTATTGCGACGTGTGGGGCCAGGGCA
CACTAGTGACCGTGTCCAGC

20

25 SEQ ID NO: 128

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRN
KANNHARHYAESVKGRFTISRDDAKNSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRTYYYGS
SYGYCDVWGQGTTLTVSS

30

SEQ ID NO: 129

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCTAGCGTGGGCGACA
GGGTGACC

35

ATCACCTGCAGGACCTCCGAGAACATCTACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC
AGAAACCC

GGCAAGGCCCCCAAGCTCCTGATCTACAACGCCAAGACACTGGCCGAGGGCG
TGCCCAGC

AGGTTCTCAGGCAGCGGCTCTGGGACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCT
GCAGCCC

40

GAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACCACTACGGAACCCCTGGACCTT
CGGCCAG

GGCACCAAGCTGGAGATTAAGCGTACG

45 SEQ ID NO: 130

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRTSENIYSYLAWYQQKPGKAPKLLIYNAKTLAE
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHHYGTPWTFGQGTKLEIKRT

SEQ ID NO: 131

5 GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCTAGCGTGGGCGACA
GGGTGACC
ATCACCTGCAGGACCTCCGAGAACATCTACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC
AGAAACCC
GGCAAGGCCCCCAAGCTCCTGGTGTACAACGCCAAGACACTGGCCGAGGGCG
TGCCCAGC
10 AGGTTCTCAGGCAGCGGCTCTGGGACCGACTTCACCCCTGACCATCAGCAGCCT
GCAGCCC
GAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACCCTACGGAACCCCCCTGGACCTT
CGGCCAG
GGCACCAAGCTGGAGATTAAGCGTACG

15

SEQ ID NO: 132

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSENIYSYLAWYQQKPGKAPKLLVYNAKTLA
EGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHYGTPWTFGQGTKLEIKRT

20

SEQ ID NO: 133

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCTAGCGTGGGCGACA
GGGTGACC
25 ATCACCTGCAGGACCTCCGAGAACATCTACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC
AGAAACCC
GGCAAGGCCCCCAGCTCCTGGTGTACAACGCCAAGACACTGGCCGAGGGCG
TGCCCAGC
AGGTTCTCAGGCAGCGGCTCTGGGACCGACTTCACCCCTGACCATCAGCAGCCT
30 GCAGCCC
GAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACCCTACGGAACCCCCCTGGACCTT
CGGCCAG
GGCACCAAGCTGGAGATTAAGCGTACG

35

SEQ ID NO: 134

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSENIYSYLAWYQQKPGKAPQLLVYNAKTLA
EGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHYGTPWTFGQGTKLEIKRT

40

SEQ ID NO: 135

GAGGTGCAGCTCCTGGAGAGCGGCGGGGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC
TGAGACTG
AGCTGCGCCGCAAGCGGCTTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGAATTGGGTGA
45 GGCAGGCC
CCCGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGAGCGAGATCAGGCACAAGGCCAACGAC
CACGCCATC

TTCTACGACGAGAGCGTGAAGGGCAGGTTACCATCTCCAGGGACAACAGCA
AGAACACC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAAGACACCGCTGTGTACTACT
GCGCCAAG
5 CCCTTTGCCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 136

10 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLEWVSEIRH
KANDHAIFYDESVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPFAYWG
QGTLVTVSS

SEQ ID NO: 137

15 GAGGTGCAGCTCCTGGAGAGCGGCGGGGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC
TGAGACTG
AGCTGCGCCGCAAGCGGCTTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGA
GGCAGGCC
20 CCCGGCAAAGGACTGGAGTGGGTCAGCGAGATCAGGCACAAGGCCAACGAC
CACGCCATC
TTCTACGACGAGAGCGTGAAGGGCAGGTTACCATCTCCAGGGACAACAGCA
AGAACACC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAAGACACCGCTGTGTACTACT
GCACCAGC
25 CCCTTTGCCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 138

30 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLEWVSEIRH
KANDHAIFYDESVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTSPFAYWGQ
GTLVTVSS

SEQ ID NO: 139

35 GAGGTGCAGCTCCTGGAGAGCGGCGGGGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC
TGAGACTG
AGCTGCGCCGCAAGCGGCTTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGA
GGCAGGCC
40 CCCGGCAAAGGACTGGAGTGGGTCAGCGAGATCAGGCACAAGGCCAACGAC
CACGCCATC
TTCTACGACGAGAGCGTGAAGGGCAGGTTACCATCTCCAGGGACGACAGCA
AGAACACC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAAGACACCGCTGTGTACTACT
GCACCAGC
45 CCCTTTGCCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 140

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS DAWMDWVRQAPGKGLEWVSEIRH
KANDHAIFYDESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTSPFAYWGQ
GTLVTVSS

5 SEQ ID NO: 141

GAGGTGCAGCTCCTGGAGAGCGGCGGGGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC
TGAGACTG
AGCTGCGCCGCAAGCGGCCTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGA
10 GGCAGGCC
CCCGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGCGCCGAGATCAGGCACAAGGCCAACGAC
CACGCCATC
TTCTACGACGAGAGCGTGAAGGGCAGGTTACCATCTCCAGGGACAACAGCA
AGAACACC
15 GTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAAGACACCGCTGTGTACTACT
GCACCAGC
CCCTTTGCCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 142

20 EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS DAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRH
KANDHAIFYDESVKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCTSPFAYWGQ
GTLVTVSS

25 SEQ ID NO: 143

GAGGTGCAGCTCCTGGAGAGCGGCGGGGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC
TGAGACTG
AGCTGCGCCGCAAGCGGCCTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGATTGGGTGA
30 GGCAGGCC
CCCGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGCGCCGAGATCAGGCACAAGGCCAACGAC
CACGCCATC
TTCTACGACGAGAGCGTGAAGGGCAGGTTACCATCTCCAGGGACGACAGCA
AGAACACC
35 GTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAAGACACCGCTGTGTACTACT
GCACCAGC
CCCTTTGCCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 144

40 EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS DAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRH
KANDHAIFYDESVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCTSPFAYWGQ
GTLVTVSS

45 SEQ ID NO: 145

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCAAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACA
GGGTGACC

ATTACCTGCAAGGCCAGCCAGAGCGTCGGCACCACCATCGTGTGGTACCAGC
AGAAAACCC
GGCAAGGCCCCCAAGCTCCTGATCTACAGCGCCAGCAACAGGCACACCGGCG
TGCCTAGC
5 AGGTTTAGCGGAAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCC
TGCAGCCC
GAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACACCAGCTATCCCTTCACCTT
CGGCCAG
GGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGTACG

10

SEQ ID NO: 146

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCKASQSVGTTIVWYQQKPGKAPKLLIYSASNRHT
GVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQYTSYPFTFGQGTKLEIKRT

15

SEQ ID NO: 147

20 GAAGTGAAGCTTGAGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTGCAACCTGGAGGATCCA
TGAAACTCTCCTGTACTGCCITCCGGATTCACTTTTAGTGACGCCCTGGATGGAC
TGGGTCCGCCAGTCTCCAGAGAAAGGGACTTGAGTGGGTTGCTGAAATTAGAC
ACAAAGCTAATGATCATGCAATATTTTATGATGAGTCTGTGAAAGGGAGGTT
CACCATCTCAAGAGATGATTCCAAAAATATTGTCTATCTGCAAATGAACAGTT
25 TAAGACCTGAGGACACCGGCATTTATTATTGTACCAGTCCTTTTGCTTATTGG
GGCCAAGGGACTCTGGTCACITGTCTCTGCA

SEQ ID NO: 148

30

GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAAATTCATGTCCGTAACAGTGGGAGACA
GGGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGGGAACTACTATAGTCTG
GTATCAACAGAAACCAGGACAATCTCCTAAATTAAGTATTACTCTGCATCCA
ATCGGCACACTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGA
35 TTTTCATTCTCACCATTAAACAATGTGCAGTCTGAGGACCTGGCAGATTATTTCT
GTCAGCAATATACCTCCTATCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAG
ATAAAACGGGCT

SEQ ID NO: 149

40

GAAGTGAAGCTTGAGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTGCAACCTGGAGGATCCA
TGAAACTCTCTTGTGCTGCCITCTGGAITTCACCTTCTAGTGACGCCCTGGATGGAC
TGGGTCCGCCAGTCTCCAGAAAAGGGGCTTGAGTGGGTTGCTGAAATTAGAA
45 ACAAAGCTAATAATCATGCAAGACACTATGCTGAGTCTGTGAAAGGGAGGTT
CACCATCTCAAGAGATGATTCCAAAAGTAGTGTCTACCTGCAAATGAACAGC
TTAAGAGCTGAAGACTCTGGCATTTATTACTGTACCAGGACGTATTATTACGG

159

TAGCAGCTACGGATACTGCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACCGTC
TCCTCA

SEQ ID NO: 150

5

GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCC'CCCTATCTGCATCTGTGGGAGAAAC
TGTCACCATCACATGTCGAACAAGTGAGAATATTTACAGTTATTTAGCATGGT
ATCAGCAGAAACAGGGAAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTATAATGCAAAAAC
10 CTTAGCAGAAGGTGTGCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACACAG
TTTTCTCTGAAGATCAACAGCC'GCAGCCTGAAGATTTTGGGAGTTATTCCTG
TCAACATCATTTATGGTACTCCGTGGACG'ITCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAA
ATCAAACGGGGCT

15

SEQ ID NO: 151

GAAGTGAAGCTTGAGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTGCAACCTGGAGGATCCA
20 TGAAACT
CTCTTGTGCTGCCTCTGGAATCACTTTTAGTGATGCCTGGATGGACTGGGTCC
GCCAGTC
TCCAGAGAAGGGGCTTGAGTGGGTGCTGACATTAGAAACACAGCTAATAAT
CATGCAAC
25 ATICTATGCTGAGTCTGTGAAAGGGAGGTTACCCATCTCAAGAGATGATTCCA
AAAGTAC
TGTCTACCTGCAAAATGAACACCTTAAGACCTGAAGACACTGGCATTTATTACT
GTACCAG
CCCTTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

30

SEQ ID NO: 152

GACAT'GTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACAAACAGTAGGAGACA
35 GGGTCAG
CATCACCTGCAAGGCCAGTCAAAATGTGGGTACTGCTGTAGTCTGGTTTCAAC
AGAAACC
AGGACAA'TCTCCTAAACTACTGATTTACTCAGCATCCAATCGGTACACCAGAG
TCCCTGA
40 TCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATTAGCAATG
TGCAGTC
TGAAGACCTGGCAGATTATTTCTGT'CAGCAATATGTCAACTATCCATTACGT
TCGGCTC
GGGGACAAAATTGGAAATAAAAA CGGGCT

45

SEQ ID NO: 153

GAAGTGAAGTTTGAGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTGCAACCTGGAGGATCCA
TGAAACTC
TCCTGTGCTGCCTCCGGATTTATTTTAGTGACGCCTGGATGGACTGGGTCCG
CCAGTCT
5 CCAGAGAAGGGACTTGAGTGGGTGCTGAAATTAGACACAAAGCTAATGATT
ATGCAATA
TTTTATGATGAGTCTGTGAAAGGGAGGTTACCATCTCAAGAGATGATTCCAA
AAGTATT
GTCTATCTGCAAATGAACAACCTAAGACCTGAAGACACCGGCATTTATTATTG
10 TACCAGT
CCTTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

15 SEQ ID NO: 154

GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCGTAACAGTGGGAGACA
GGGTCAGC
ATCACCTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGGGAACCTACTATAGTCTGGTATCAAC
20 AGAAACCA
GGACAATCTCCTAAATTAAGTATTACTCAGCATCCAATCGACACACTGGAGT
CCCTGAT
CGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCAATCTCACCATTAGCAATGT
GCAGTCT
25 GAAGACCTGGCAGATTATTTCTGTCAGCAATATAGCAGCTATCCATTCACGTT
CGGCTCG
GGGACAAAGTTGGAAATAAAA CGGGCT

30 SEQ ID NO: 155

GAGGTGAAGCTTGAGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTGCAACCTGGAGGATCCA
TGAAACTC
TCCTGTGCTGCCTCTGGATTCACTTTTAGTGACGCCTGGATGGACTGGGTCCG
35 CCAGTCT
CCAGAGAAGGGACTTGAGTGGGTGCTGAAATTAGACACAAAGCTAATGATC
ATGCAATA
TTTTATGATGAGTCTGTGAAAGGGAGGTTACCATCTCAAGAGATGATTCCAA
AAGTATT
40 GTCTATCTGCAAATGAACAGCTTAAGACCTGAAGACACCGGCATTTATTATTG
TACCAGT
CCTTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

45 SEQ ID NO: 156

GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAGATTCATGTCCGTAACAGTGGGAGACA
GGGTCAGC

ATCACCTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGGGTACTACTATAGTCTGGTATCAAC
AGAAACCA
GGACAATCTCCTAAACTACTGATTTACTCAGCATCCACTCGGTATACTGGGGT
CCCTGAT
5 CGCTTCACAGGCCGGTGGATCTGGGACAGATTTCAITTCACCATTAACAATGT
GCAGTCT
GAAGACCTGGCAGATTATTTCTGTCAGCAGTATAGCAGCTATCCATTCACGTT
CGGCTCG
GGGACAAAGTTGGAAATAAAA CGGGCT

10
SEQ ID NO: 157

GAAGTGAAGCTTGAGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGGGCAACCTGGAGGATCCA
15 TGAAACTC
TCTTGTGCTGCCICTGGATTCAATTTTAGTGACGCCITGGATGGACTGGGTCCG
CCAGTCT
CCAGAAAAGGGGCTTGAGTGGGTGCTGAAATTAGACACAAAGCTAATGATC
ATGCAATA
20 TTCTATGCTGAGTCTGTGAAAGGGAGGTTCACCATCTCAAGAGATGATTCCAA
AAGTAGT
GTCTACCTCCAAATGAACAGCTTAAGAGCTGAAGACACTGGCATTTATTA CTG
TACCAGC
CCTTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

25
SEQ ID NO: 158

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEIRH
30 KANDHAIIFYDESVKGRFTISRDDSKNTVYILQMNSLR AEDTAVYYCTSPFAYWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVIITFP AVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNIHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHITCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
N WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
35 LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALINIIY
TQKSLSLSPGK

40
SEQ ID NO: 159

GAGGTGCAGCTCCTGGAGAGCGGCGGGGGCCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC
TGAGACTGAGCTGCGCCGCAAGCGGCTTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGA
TTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGCGCCGAGATCAGG
45 CACAAAGGCCAACGACCACGCCATCTTCTACGACGAGAGCGTGAAGGGCAGGT
TCACCATCTCCAGGGACGACAGCAAGAACACCGTGTACCTGCAGATGAACAG
CCTGAGGGCCGAAGACACCGCTGTGTACTACTGCACCAGCCCCCTTGCCTACT
GGGGCCAGGGAACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAG

CGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACACCAGCGGCGGCACAGCCGCC
CTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCTCTGGA
ACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAG
CAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTG
5 GGCACCCAGACCTACATCTGTAAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGG
TGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCC
CTGCCCTGCCCCCGAGCTGGCCGGAGCCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCCA
AGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGT
GGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGAC
10 GGCCTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAAC
AGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGA
ACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCTAT
CGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTA
CACCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC
15 TGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA
ACGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGA
TGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAG
CAGGGCAACGTGTTTCTGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACT
20 ACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
6 January 2011 (06.01.2011)



(10) International Publication Number
WO 2011/002968 A3

(51) International Patent Classification:
C12P 21/08 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2010/040724

(22) International Filing Date:
1 July 2010 (01.07.2010)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/222,521 2 July 2009 (02.07.2009) US
61/249,757 8 October 2009 (08.10.2009) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **GLAXO GROUP LIMITED** [US/US]; Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN (GB).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **BURDEN, Michael, Neil** [GB/GB]; Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB). **HAMBLIN, Paul, Andrew** [GB/GB]; Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB). **LARKIN, Jonathan, David** [US/US], 709 Swedeland Road, King Of Prussia, PA 19406 (US). **WHITE, John, Richard** [US/US]; 709 Swedeland Road, King Of Prussia, PA 19406 (US).

(74) Agents: **DERMOTT, Jonathan, M. et al.**; GLAXO-SMITHKLINE, Corporate Intellectual Property, UW2220, 709 Swedeland Road, P.O. Box 1539, King Of Prussia, PA 19406-0939 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AF, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,

DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))
- with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))

(88) Date of publication of the international search report:
7 April 2011

(54) Title: POLYPEPTIDES AND METHOD OF TREATMENT

(57) Abstract: Provided herein are isolated antigen binding protein comprising at least one first immunoglobulin variable domain capable of binding to human ADAMTS5. Also provided are antigen binding proteins of the present invention that are monoclonal antibodies, pharmaceutical compositions comprising said antigen binding proteins and methods of treatment.

WO 2011/002968 A3

162

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 10/40724

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - C12P 21/08 (2010.01)
USPC - 530/388.26

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
USPC- 530/388.26Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC- 424/146.1

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

PubWEST(PGPB, USPT, EPAB, JPAB), Google, Google Scholar, Google Patents: ADAMTS-5, aggrecanase-2, ADMP-2, ADAM-TS 11, ADAMTS11, ADAM-TS5, ADMP2, ADAM-TS 5, ADMP2, FLJ36738, monoclonal antibody, dissociation constant, Kd
GenCore 6.3: SEQ ID NO: 2, 13, 18, 20, 22, 27, 67-70, 75-78, 83-102, 115-134

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- Y	US 2008/0311113 A1 (Morris, et al.) 18 December 2008 (18.12.2008) claim 1; para [0028], [0085], [0583], Example 5;	1-4, 10 ----- 32, 59,34
Y	Steidl, et al. In vitro affinity maturation of human GM-CSF antibodies by targeted CDR-diversification. Mol Immunol. 2008, 46(1):135-44; pg 139, right col, last para to pg 140, left col, 1st para; pg 141, right col, 4th para	32 and 59
Y	Tabrizi, et al. Elimination mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies. Drug Discovery Today 2006, 11(1-2):81-88; pg 83, right col, last para	34
X	Matsumoto, et al. Expression of ADAMTS-5 in deformed human temporomandibular joint discs. Histol Histopathol. 2008, 23(12):1485-93; Abstract	1-2
X	Sieuwerts, et al. Study Patients with Recurrent Breast Cancer: a Retrospective Receptor Predict Response to Tamoxifen Treatment in How ADAM-9 and ADAM-11 Differentially From Estrogen. Clin Cancer Res 2005, 11(20):7311-7321; pg 7314, col 1, second para	1-2
X	Takahashi, et al. Deficits in spatial learning and motor coordination in ADAM11-deficient mice BMC Neuroscience 2006, 7:19 doi:10.1186/1471-2202-7-19. [Retrieved from the Internet 12 January 2011: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1420314/pdf/1471-2202-7-19.pdf]; pg 9, left col, 3rd para	1-2



Further documents are listed in the continuation of Box C.



* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 January 2011 (12.01.2011)

Date of mailing of the international search report

10 FEB 2011

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. 571-273-3201

Authorized officer:

Lee W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300
PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 10/40724

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 5-9, 11-28, 33, 35, 38-42, 45-49, and 58
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1.

Group I+: Claims 1-4, 10, 29-32, 34, 36-37, 43-44, 50-57, and 59, drawn to an isolated antigen binding protein, an isolated monoclonal antibody, and an isolated polynucleotide encoding an antibody domain, where the first named invention will be searched (claims 1-4, 10, 29, 31, 32, 34, 36-37, 43-44, 50-57, and 59) and is limited to an isolated monoclonal antibody or antigen binding domain comprising the six CDRs recited in claim 29, namely SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22 and SEQ ID NO:27, and the sequences which encode domains (e.g. VH or VL domains) comprising the sequences, namely, nucleic acid SEQ ID NOS: 67, 69, 75, 77, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, and 133, and the amino acid sequences which are encoded thereby, namely SEQ ID NOS: 68, 70, 76, 78, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, and 134, respectively. Applicant may have the set of CDRs recited in claim 30, and any domains (e.g. VH or VL domains) which comprise or encode the CDRs, searched for an additional search fee. Additionally or alternatively, Applicant may select one or more antibody VH or VL domains searched for an additional search fee(s) as follows.

..... See Supplemental Box to continue

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: claims 1-4, 10, 29, 31, 32, 34, 36-37, 43-44, 50-57, and 59, restricted to SEQ ID NO: 2, 13, 18, 20, 22, 27, 67-70, 75-78, 83-102, 115-134

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

163

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 10/40724

Supplemental Box

In continuation of Box III. LOU:

Additionally or alternatively, Applicant may select one or more antibody VH or VL domains searched for an additional search fee(s) as follows. Due to the number of sequences in this application, Groups I+ will be defined as necessary depending on Applicant's ultimate payment of additional fees. The additional sequences will be searched if applicant pays for each additional sequence or shows that the sequences share a special technical feature, i.e. a common structure or feature that defines a contribution over the prior art. Note that each additional sequence to be searched must be specified by the Applicant in the response to this invitation and must either (1) have an additional invention fee paid or (2) have a showing that the sequences share a common structure or feature that defines a contribution over the prior art.

The inventions listed as Group I+ does not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The inventions of Group I+ shares the technical feature of an isolated antigen binding protein comprising at least one first immunoglobulin variable domain capable of binding to human ADAMTS5. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art. Specifically US 2008/0311113 A1 to Morris et al. (hereinafter 'Morris') discloses an isolated antigen binding protein capable of binding to human ADAMTS5. (para [0028] - 'the agent is an anti-ADAMTS-5 antibody that is capable of inhibiting ADAMTS-5'; para [0160] - 'Positive serum was purified by affinity chromatography'; para [0583] - 'four monoclonal antibodies generated against recombinant human ADAMTS-5 demonstrated reactivity with ADAMTS-5').

The common structural feature between of inventions such as those recited in claims 29 and 30 is a CDR comprising SEQ ID NO: 2. However, US 20050032175 A1 to STAHL et al. discloses an antibody to hIL-6 VH comprising CDR sequences (para [0041] - 'CDR regions from hIL-6-specific antibodies selected from the group consisting of SEQ ID NOs:19-24'; Claim 16 - 'a V.sub.H CDR selected from the group consisting of SEQ ID NOs:19-24'), wherein SEQ ID NO: 22 is 100% identical to the claimed SEQ ID NO: 2. Accordingly, an isolated antibody comprising SEQ ID NO: 2 does not represent an improvement over the prior art.

Furthermore, US 2006/0121022 A1 to KOGA et al. discloses an antibody to aPC having VL CDR sequence (Abstract - 'anti-aPC antibodies'; para [0081] - 'the L chain CDRs, it is preferable to use combinations of, for example, those comprising the amino acid sequences of RTSSENIYSYA (SEQ ID NO: 24)', which is 100% identical to the claimed SEQ ID NO: 20; and US 2008/0025977 A1 to Young et al. discloses an anti-CD59 antibody comprising a VL CDR sequence (para [0016] - 'a human mAb, directed against CD59'; Claim 51 - 'light chain variable region comprising the complementarity determining region amino acid sequences of ... SEQ ID NO:5'), which is 100% identical to the claimed SEQ ID NO: 22. Accordingly, although the claimed antibodies share a functional feature in that they bind ADAMTS5, these presence of the claimed CDRs in various prior art antibodies indicates that such a shared functional feature of ADAMTS5 binding is not dependent on shared structural features, as different combinations of CDR sequences resulted in antibodies having different function.

Groups I+ therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Accordingly, unity of invention is lacking.



No. 11-181044-00000-0000

Fecha: 2011-12-29 16:42:01 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEI/II Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 163

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☒ Indicación que se solicita una PCT
- ☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☒ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
- Completa ☒ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐