



Industria y Comercio

S U P E R I N T E N D E N C I A

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

06-34496

54. TÍTULO

ANTICUERPOS DIRIGIDOS A M-CSF

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

C07K16/00, C12N15/00, A61P19/02
A61K39/44.

71. SOLICITANTE S

WARNER-LAMBERT COMPANY LLC y ABGENIX, INC.

DOMICILIO S

Morris Plains, New Jersey y Fremont, New Jersey,
Estados Unidos de América, respectivamente.

74. APODERADO

EMILIO FERRERO

C.C. 438,019 de Usaquén.

22. BOGOTÁ, D. C.,

**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Rad: 06-034406-00000-0000 Fec: 2006-04-07 17:45:45

Dep. 2020 NUECREACIONES

Tra: 11 PATENTEYII Eje 378 FASENACIONALI

Act 411 PRESENTACION Folios: 315

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE**PCT****ENTRADA EN FASE NACIONAL**

10-04-2006

SOLICITUD DE:

1

☒ Patente de Invención.☐ Patente de Modelo de Utilidad.☒ Capítulo I.☐ Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**Nombre: **WARNER-LAMBERT COMPANY
LLC y ABGENIX, INC**sociedades constituidas y existentes bajo
las leyes del estado de New Jersey y
California, Estados Unidos de América.Dirección: 201 Tabor Road,
Morris Plains
New Jersey 07950
Estados Unidos de América y6701 Kaiser Drive,
Fremont
California 94555
Estados Unidos de AméricaDomicilios: Morris Plains
New Jersey 07950
Estados Unidos de América yFremont
California 94555
Estados Unidos de América**IDENTIFICACIÓN**

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO**Nombre: **EMILIO FERRERO**

Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35

Teléfono: 347 36 11

Fax: 211 86 50

E-mail: clientes@camyp.com.

Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número 438.019 T.P 31.929

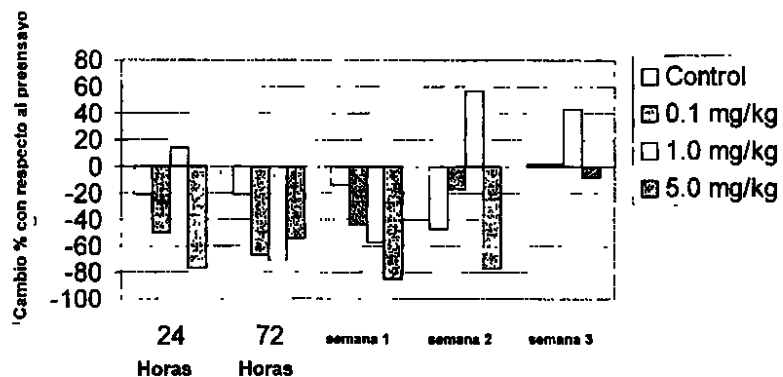
4

**INVENTOR (ES)
(72)****1. Vahe BEDIAN**
3 Frog Hollow Road,
East Lyme
Connecticut 06333,
Estados Unidos de América.**3. Joseph Edwin LOW**
4259 Fairway Drive,
Ann Arbor
Michigan 48103,
Estados Unidos de América.**5. Sirid-Aimee KELLERMANN**
1000 Alamanor Avenue,
Menlo Park
California 94025,
Estados Unidos de América.**7. Mary HAAK-FRENDSCO**
8472 Willow Place,
Newark
California 94560,
Estados Unidos de América.**2. Madhav Narasimha DEVALARAJA**
690 Trego Circle,
Ann Arbor
Michigan 48103,
Estados Unidos de América.**4. James Leslie MOBLEY**
10195 Covington,
Brighton
Michigan 48114,
Estados Unidos de América.**6. Ian FOLTZ**
2108 Knightswood Place,
Burnaby,
British Columbia V5A4B9
Canadá.

5	PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/US2004/029390</u> Fecha: <u>9 de septiembre de 2004</u> Publicación Internacional No. <u>WO 2005/030124 A2</u> Fecha: <u>7 de abril de 2005</u>		
6	Título (54) <u>ANTICUERPOS DIRIGIDOS A M-CSF</u>		
7	Clasificación Internacional (51) <u>C07K16/00, C12N15/00, A61P19/02, A61K39/44</u>		
8	Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen <u>US</u>	(32) Fecha <u>10 de septiembre de 2003</u>
			(31) Número de Solicitud <u>60/502,163</u>
9	Comprobante de pago No.: <u>06-25,686</u> Fecha: <u>abril 3 de 2006</u>		
10	Anexos: ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 463.000.00. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad. ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica. WARNER-LAMBERT COMPANY, LLC ☒ Poderes, si fuere el caso. WARNER-LAMBERT COMPANY, LLC ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. ☐ Declaraciones. ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☐ Traducción del examen preliminar 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 12x12 ☐ 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. ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS		

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: EMILIO FERREROFIRMA: *Emilio Ferrero*

C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

3 4
2008

13661
827

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: The United States of America

THIS PUBLIC DOCUMENT

2. has been signed by **CHRISTINA LONDON**

3. acting in the capacity of **NOTARY PUBLIC**

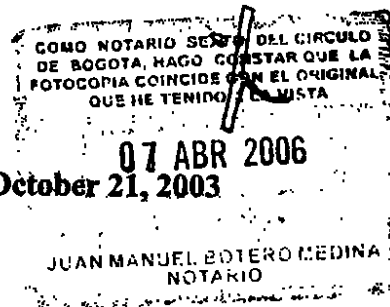
4. in the State of Connecticut for the term of **July 22, 2002 to July 31, 2007**

CERTIFIED

5. at Hartford, Connecticut

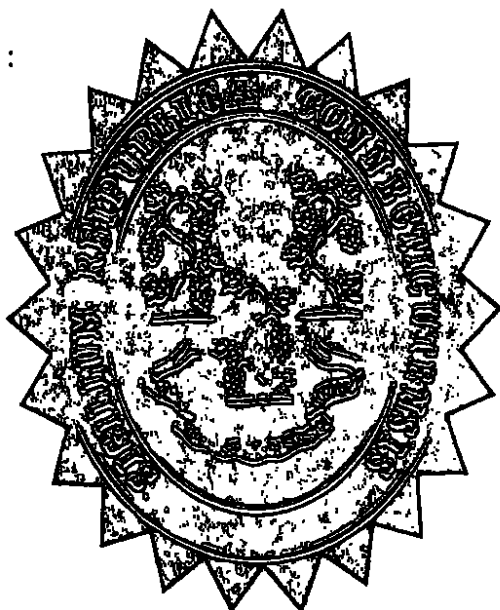
6. on **October 21, 2003**

7. by **SUSAN BYSIEWICZ**, Secretary of the State of Connecticut



8. Number : 2003-11804

9. Seal :



10. Signature

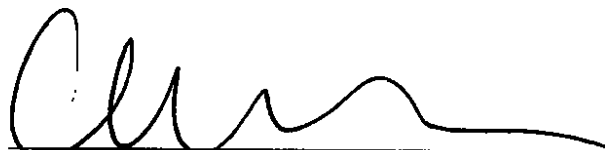
Susan Bysiewicz
Secretary of the State

VERIFIED STATEMENT

STATE OF CONNECTICUT)
) ss.
COUNTY OF FAIRFIELD)

CARRIE WEBB OLSON, being duly sworn, deposes and says:

1. I am over 18 years of age, and am a member of the Connecticut State Bar. I am an associate with the law firm of Edwards & Angell LLP.
2. The Colombian Trademark Representation and Power of Attorney attached hereto is the original document.



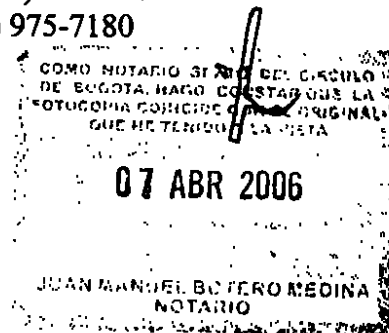
Carrie Webb Olson
Attorney at Law
Edwards & Angell LLP
301 Tresser Boulevard
Stamford, CT 06901
Phone: (203) 975-7505
Fax: (203) 975-7180

Subscribed and sworn to before me
this 17 day of October, 2003



Notary Public

Christina London
NOTARY PUBLIC
State of Connecticut
My Commission Expires 7/31/07



CAVELIER
ABOGADOS
EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTÁ, S - COLOMBIA

181

Representación y Poder con autenticación notarial y Apostille para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, lemas comerciales, licencias.

Representation and Power-of-Attorney with notarial authentication and Apostille for patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, domain names, slogans, licenses.

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER-OF-ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

WARNER-LAMBERT COMPANY LLCdomiciliado (s) en/or 201 Tabor RoadMorris Plains, New Jersey 07950, U.S.A.

COMO NOTARIO SEÑOR DEL CIRCULO
DE BOGOTÁ, HAGO CONSTAR QUE LA
FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL
QUE HE TENIDO A LA VISTA

07 ABR 2003

por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4a N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso administrativos relacionados con

in due compliance with the terms of paragraph 1 of Article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciled at Carrera 4a N° 72 35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time. In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above named attorneys at law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, domain names, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits

CERTIFICADO NOTARIAL (INDIVIDUO)

A los _____ días del mes de _____
de 200__ ante mí, Notario Público o Funcionario Autorizado
de _____
compareció(eron) personalmente _____

a quien(es) doy fe de conocer y me consta que es(son) la(s)
persona(s) firmante(s) del documento que precede, y quien(es)
tiene(n) capacidad legal para otorgarlo

Notario Público o Funcionario Autorizado --Notary Public or Attesting Official

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Hoy 9 de SEPTIEMBRE de 2003
Compareció(eron) ante mí
EVAN J. FEDERMAN

quien(es) conozco personalmente y que firma(n) este
documento en representación de la Sociedad/compañía
denominada WARNER-LAMBERT COMPANY LLC

Certifico:

1. Que he visto los siguientes documentos:

CERTIFICADO DE CONSTITUCION, DICIEMBRE
31, 2002, DELAWARE

2. Que dichos documentos prueban lo siguiente:

2.1. Que WARNER-LAMBERT COMPANY LLC

es una Sociedad/Compañía legalmente constituida y existente
de acuerdo con las leyes del Estado de Delaware,
Estados Unidos de América

2.2. Que el domicilio de dicha Sociedad/Compañía es _____
201 Tabor Road, Morris Plains,
New Jersey 07950, E.U.A.

2.3. Que el objeto u objetos para los cuales se otorga el presente
poder están comprendidos dentro del objeto social de la
mencionada Sociedad/Compañía.

2.4. Que el(los) Sr.(Sras.) EVAN J. FEDERMAN
está(n) autorizado(s) para otorgar el presente Poder.

Ciudad MORRIS PLAINS

Estado NEW JERSEY

Hoy 9 de SEPTIEMBRE de 2003

Notario Público o Funcionario Autorizado -- Notary Public or Attesting Official

* Los documentos deben identificarse con fecha y origen

© CAVELIER ABOGADOS
WFFODE01-181 (MINUTA N°12.1.1.2.6 USA)

NOTARIAL CERTIFICATE (INDIVIDUAL)

On this _____ day of _____
200__ before me, a Notary Public or Attesting Official of _____
personally appeared _____

to me known, and known to me to be the person(s) who
executed that foregoing document, and who has(have) legal
capacity to execute it.

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

On this 9th day of September 2003
appeared before me _____

who(m) I know personally and who(m) signed this document as
representative(s) of the Corporation/Company named _____
WARNER-LAMBERT COMPANY LLC

I certify:

1. That I have seen the following documents: CERTIFICATE OF FORMATION DECEMBER 31, 2002
Delaware, 07 ABR 2006

2. That the above documents duly prove the following:

2.1. That WARNER-LAMBERT COMPANY LLC

is a Corporation/Company legally constituted and in existence
in accordance with the laws State of Delaware,
United States of America

2.2. That the domicile of said Corporation/Company is _____
201 Tabor Road, Morris Plains,
New Jersey 07950, U.S.A.

2.3. That the purpose or purposes for which the present Power
of Attorney is granted are comprised within the corporation
purposes set forth in the charter of the mentioned
Corporation/Company.

2.4. That Mr.(Messrs.) EVAN J. FEDERMAN
is(are) authorized to grant the present Power of Attorney.

City Morris Plains

State New Jersey

This 9th day of September 2003

MARY M. HELMKEN

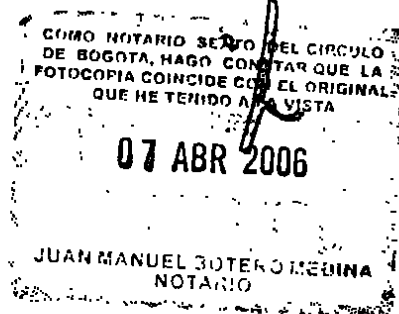
* Documents must be identified with date and origin

MARY M. HELMKEN
Notary Public of New Jersey
My Commission Expires April 22, 2004

estos derechos, acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Dado y firmado hoy/Given and signed this 9/9/03
en/in Morris Plains NJ 07867
por/by Evan Federman
EJ
Firma Assistant Secretary Signature



APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country:
- This public document
2. has been signed by
3. acting in the capacity of
4. bears the seal/stamp of

Certified

5. at 6. the
7. by
8. No.
9. Seal/stamp 10. Signature

COMO NOTARIO SEÑOR DEL CIRCULO
DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA
FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL
QUE HE TENIDO A LA VISTA

07 ABR 2006

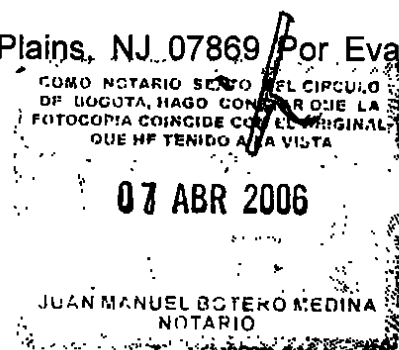
NOTARIO
NOTARIO

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 24.12/03 preparada por María Elvira Martelo, traductora oficial aprobada por el Ministerio de Justicia mediante resolución 2879 de 1999 y reconocida por el Ministerio de Relaciones Exteriores.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento de Poder en inglés y español, por el cual **WARNER-LAMBERT COMPANY LLC**, domiciliada en 201 Tabor Road, Morris Plains, New Jersey 07950, EUA, otorga poder a **EMILIO FERRERO, GONZALO PERDOMO, LUZ CLEMENCIA DE PAEZ Y GERMAN CAVELIER**.

Dado y firmado el 9 de septiembre de 2003 en Morris Plains, NJ 07869 Por Evan Federman

(Firmado) Secretario Asistente.



CERTIFICACIÓN NOTARIAL (SOCIEDAD) en inglés y español referente a la existencia legal de WARNER-LAMBERT COMPANY LLC y a la capacidad legal de Evan J. Federman para otorgar poder. Dado y firmado en la ciudad de Morris Plains, Estado de New Jersey, el 9 de septiembre de 2003. (Firma ilegible), Notario Público. (Sello notarial) MARY M. HELMKEN, Notario Público de New Jersey. Mi comisión expira el 22 de abril de 2004.

DECLARACIÓN VERIFICADA

ESTADO DE CONNECTICUT

CONDADO DE FAIRFIELD

10
11

CARRIE WEBB OLSON, habiendo tomado el debido juramento, declara y dice:

1. Tengo más de 18 años de edad y soy miembro del Colegio de Abogados del Estado de Connecticut. Soy asociada de la firma de abogados Edwards & Angell LLP.

2. La Representación y Poder para asuntos de Marcas en Colombia anexo es el documento original.

(Firmado)

Carrie Webb Olson

Apoderada

Edwards & Angell LLP

301 Tresser Boulevard

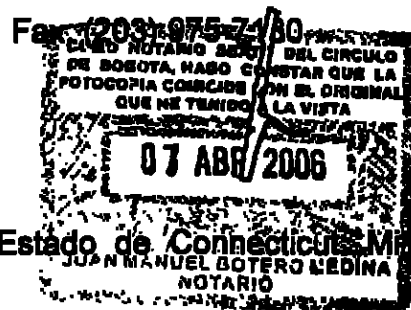
Stamford, CT 06901

Teléfono: (203) 975-7505

Suscrito y jurado ante mí hoy 17 de octubre de 2003

(Firma ilegible), Notario Público

(Sello notarial) Christina London, NOTARIO PÚBLICO, Estado de Connecticut, comisión expira el 31 de julio de 2007.



APOSTILLA

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

1. País: Estados Unidos de América

ESTE DOCUMENTO PÚBLICO

2. ha sido firmado por CHRISTINA LONDON

3. actuando en su capacidad de NOTARIO PÚBLICO

12

4. del estado de Connecticut por el término 22 de julio de 2002 a 31 de enero de 2007

CERTIFICADO

5. en Hartford, Connecticut

6. el 21 de octubre de 2003

7. por **SUSAN BYSIEWICZ**, Secretario de Estado de Connecticut

8. Número: **2003-11804**

9. Sello: sello del Estado de Connecticut

10. Firma: (firmado), Susan Bysiewicz, Secretario de Estado

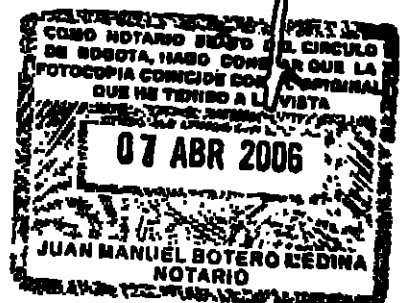
Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

COLO 13804-703-001-8

WPCL 002F - ID 2221

AGO 21/03

Maria E. Martelo
TRADUCCION No.: 24.12.03
MARIA ELVIRA MARTELO
Traductora e Interprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 2879 Min. Justicia



NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2003 DEC 31 A 9 30

DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MICROFILMADO

513667

Eduardo Montecó

CUYA FIRMADA EN EL
DOCUMENTO DE LA
LAS FIRMAS DE LOS

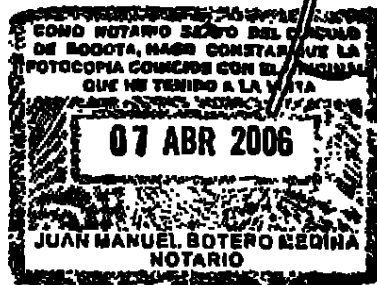
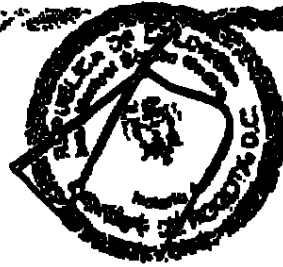
COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) ANTERIOR(ES) FIRMA(S) PUESTA(S) POR

Maria Elvira Martelo

IDENTIFICADOS CON C.C. No.(s)

ES(SO) IDENTICA(S)

SANTAFE DE BOGOTA, 31 DIC. 2003



DOCUMENTOS ANEXOS

13

1. ☒ **Publicación Internacional WO 2005/030124 A2**
2. ☒ **Forma PCT/ISA/210. Informe de Búsqueda Internacional.**
3. ☒ **Forma PCT/ISA/237. Opinión Escrita De La Administración Encargada De La Búsqueda Internacional.**
4. ☒ **Extracto de publicación.**
5. ☒ **Listado de secuencias**

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

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
7 April 2005 (07.04.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/030124 A2

(51) International Patent Classification⁷: A61K

(21) International Application Number:
PCT/US2004/029390

(22) International Filing Date:
9 September 2004 (09.09.2004)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/502,163 10 September 2003 (10.09.2003) US

(71) Applicants (for all designated States except US):
WARNER-LAMBERT COMPANY LLC [US/US];
201 Tabor Road, Morris Plains, New Jersey 07950 (US).
ABGENIX, INC. [US/US]; 6701 Kaiser Drive, Fremont,
California 94555 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): BEDIAN, Vaha
[US/US]; 3 Frog Hollow Road, East Lyme, Connecticut
06333 (US). DEVALARAJA, Madhav Narasimha
[IN/US]; 690 Trego Circle, Ann Arbor, Michigan 48103
(US). LOW, Joseph Edwin [US/US]; 4259 Fairway
Drive, Ann Arbor, Michigan 48103 (US). MOBLEY,

James Leslie [US/US]; 10195 Covington, Brighton,
Michigan 48114 (US). KELLERMANN, Sirkka-Almea
[DE/US]; 1000 Alamanor Avenue, Menlo Park, California
94025 (US). FOLTZ, Ian [CA/CA]; 2108 Knightswood
Place, Burnaby, British Columbia V5A4B9 (CA).
HAAK-FRENDSCHO, Mary [US/US]; 8472 Willow
Plaza, Newark, California 94560 (US).

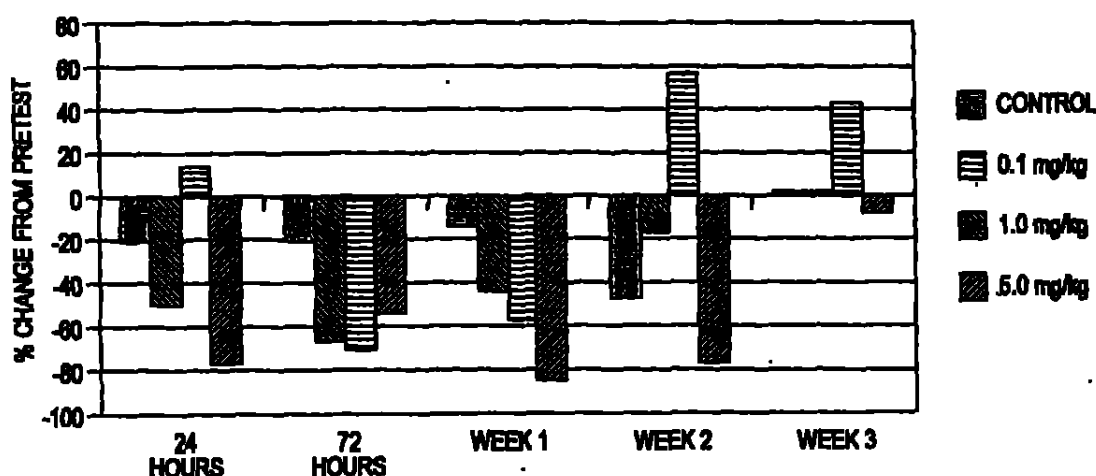
(74) Agents: HALEY, James R., Jr. et al.; c/o FISH & NEAVE,
1251 Avenue of the Americas, New York, NY 10020 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,
ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,

(Continued on next page)

(54) Title: ANTIBODIES TO M-CSF



(57) Abstract: The present invention relates to antibodies and antigen-binding portions thereof that specifically bind to a M-CSF, preferably human M-CSF, and that function to inhibit a M-CSF. The invention also relates to human anti-M-CSF antibodies and antigen-binding portions thereof. The invention also relates to antibodies that are chimeric, bispecific, derivatized, single chain antibodies or portions of fusion proteins. The invention also relates to isolated heavy and light chain immunoglobulins derived from human anti-M-CSF antibodies and nucleic acid molecules encoding such immunoglobulins. The present invention also relates to methods of making human anti-M-CSF antibodies, compositions comprising these antibodies and methods of using the antibodies and compositions for diagnosis and treatment. The invention also provides gene therapy methods using nucleic acid molecules encoding the heavy and/or light immunoglobulin molecules that comprise the human anti-M-CSF antibodies. The invention also relates to transgenic animals and transgenic plants comprising nucleic acid molecules of the present invention.

WO 2005/030124 A2



FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI,
SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

Published:

- *without international search report and to be republished upon receipt of that report*

ANTIBODIES TO M-CSF

[0001] This application claims the benefit of United States Provisional Application 60/502,163, filed September 10, 2003.

Background of the Invention

- 5 [0002] Macrophage colony stimulating factor (M-CSF) is a member of the family of proteins referred to as colony stimulating factors (CSFs). M-CSF is a secreted or a cell surface glycoprotein comprised of two subunits that are joined by a disulfide bond with a total molecular mass varying from 40 to 90 kD ((Stanley B.R., *et al.*, *Mol. Reprod. Dev.*, 46:4-10 (1997)). Similar to other CSFs, M-CSF is
- 10 produced by macrophages, monocytes, and human joint tissue cells, such as chondrocytes and synovial fibroblasts, in response to proteins such as interleukin-1 or tumor necrosis factor-alpha. M-CSF stimulates the formation of macrophage colonies from pluripotent hematopoietic progenitor stem cells (Stanley B.R., *et al.*, *Mol. Reprod. Dev.*, 46:4-10 (1997)).
- 15 [0003] M-CSF typically bind to its receptor, *c-fms*, in order to exert a biological effect. *c-fms* contains five extracellular Ig domains, one transmembrane domain, and an intracellular domain with two kinase domains. Upon M-CSF binding to *c-fms*, the receptor homo-dimerizes and initiates a cascade of signal transduction pathways including the JAK/STAT, PI3K, and ERK pathways.
- 20 [0004] M-CSF is an important regulator of the function, activation, and survival of monocytes/macrophages. A number of animal models have confirmed the role of M-CSF in various diseases, including rheumatoid arthritis (RA) and cancer. Macrophages comprise key effector cells in RA. The degree of synovial

- macrophage infiltration in RA has been shown to closely correlate with the extent of underlying joint destruction. M-CSF, endogenously produced in the rheumatoid joint by monocytes/macrophages, fibroblasts, and endothelial cells, acts on cells of the monocyte/macrophage lineage to promote their survival and differentiation into
- 5 bone destroying osteoclasts, and enhance pro-inflammatory cellular functions such as cytotoxicity, superoxide production, phagocytosis, chemotaxis and secondary cytokine production. For example, treatment with M-CSF in the rat streptococcus agalactiae sonicate-induced experimental arthritis model lead to enhanced pathology (Abd, A.H., *et al.*, *Lymphokine Cytokine Res.* 10:43-50 (1991)).
- 10 Similarly, subcutaneous injections of M-CSF in a murine model of collagen-induced arthritis (CIA), which is a model for RA, resulted in a significant exacerbation of the RA disease symptoms (Campbell LK., *et al.*, *J. Leuk. Biol.* 68:144-150 (2000)). Furthermore, MRL/lpr mice that are highly susceptible to RA and other autoimmune diseases have elevated basal M-CSF serum concentrations
- 15 (Yui M.A., *et al.*, *Am. J. Pathol.* 139:255-261 (1991)). The requirement for endogenous M-CSF in maintaining CIA was demonstrated by a significant reduction in the severity of established disease by M-CSF neutralizing mouse monoclonal antibody (Campbell LK., *et al.*, *J. Leuk. Biol.* 68:144-150 (2000)).
- [0005] With respect to cancer, inhibition of colony stimulating factors by
- 20 antisense oligonucleotides suppresses tumor growth in embryonic and colon tumor xenografts in mice by decelerating macrophage-mediated ECM breakdown (Seyedhoasein, A., *et al.*, *Cancer Research*, 62:5317-5324 (2002)).
- [0006] M-CSF binding to *c-fms* and its subsequent activation of monocyte/macrophages is important in a number of disease states. In addition to
- 25 RA and cancer, the other examples of M-CSF-related disease states include osteoporosis, destructive arthritis, atherogenesis, glomerulonephritis, Kawasaki disease, and HIV-1 infection, in which monocytes/macrophages and related cell types play a role. For instance, osteoclasts are similar to macrophages and are regulated in part by M-CSF. Growth and differentiation signals induced by
- 30 M-CSF in the initial stages of osteoclast maturation are essential for their subsequent osteoclastic activity in bone.

[0007] Osteoclast mediated bone loss, in the form of both focal bone erosions and more diffuse juxta-articular osteoporosis, is a major unsolved problem in RA. The consequences of this bone loss include joint deformities, functional disability, increased risk of bone fractures and increased mortality. M-CSF is uniquely
5 essential for osteoclastogenesis and experimental blockade of this cytokine in animal models of arthritis successfully abrogates joint destruction. Similar destructive pathways are known to operate in other forms of destructive arthritis such as psoriatic arthritis, and could represent venues for similar intervention.

[0008] Postmenopausal bone loss results from defective bone remodeling
10 secondary to an uncoupling of bone formation from exuberant osteoclast mediated bone resorption as a consequence of estrogen deficiency. *In-vivo* neutralization of M-CSF using a blocking antibody has been shown in mice to completely prevent the rise in osteoclast numbers, the increase in bone resorption and the resulting bone loss induced by ovariectomy.

[0009] Several lines of evidence point to a central role for M-CSF in
15 atherogenesis, and in proliferative intimal hyperplasia after mechanical trauma to the arterial wall. All the major cell types in atherosclerotic lesions have been shown to express M-CSF, and this is further up-regulated by exposure to oxidized lipoprotein. Blockade of M-CSF signaling with a neutralizing *c-fms* antibody
20 reduces the accumulation of macrophage-derived foam cells in the aortic root of apolipoprotein E deficient mice maintained on a high fat diet.

[0010] In both experimental and human glomerulonephritis, glomerular M-CSF expression has been found to co-localize with local macrophage accumulation, activation and proliferation and correlate with the extent of glomerular injury and
25 proteinuria. Blockade of M-CSF signaling via an antibody directed against its receptor *c-fms* significantly down-regulates local macrophage accumulation in mice during the renal inflammatory response induced by experimental unilateral ureteric obstruction.

[0011] Kawasaki disease (KD) is an acute, febrile, pediatric vasculitis of
30 unknown cause. Its most common and serious complications involve the coronary vasculature in the form of aneurismal dilatation. Serum M-CSF levels are significantly elevated in acute phase Kawasaki's disease, and normalize following

treatment with intravenous immunoglobulin. Giant cell arthritis (GCA) is an inflammatory vasculopathy mainly occurring in the elderly in which T cells and macrophages infiltrate the walls of medium and large arteries leading to clinical consequences that include blindness and stroke secondary to arterial occlusion. The
5 active involvement of macrophages in GCA is evidenced by the presence of elevated levels of macrophage derived inflammatory mediators within vascular lesions.

[0012] M-CSF has been reported to render human monocyte derived macrophages more susceptible to HIV-1 infection *in vitro*. In a recent study,
10 M-CSF increased the frequency with which monocyte-derived macrophages became infected, the amount of HIV mRNA expressed per infected cell, and the level of proviral DNA expressed per infected culture.

[0013] Given the role of M-CSF in various diseases, a method for inhibiting M-CSF activity is desirable.

15 [0014] There is a critical need for therapeutic anti-M-CSF antibodies.

16
17

SUMMARY OF THE INVENTION

[0015] The present invention provides isolated human antibodies or antigen-binding portions thereof that specifically bind human M-CSF and acts as a M-CSF antagonist and compositions comprising said antibody or portion.

5 [0016] The invention also provides for compositions comprising the heavy and/or light chain, the variable regions thereof, or antigen-binding portions thereof an anti-M-CSF antibody, or nucleic acid molecules encoding an antibody, antibody chain or variable region thereof the invention effective in such treatment and a pharmaceutically acceptable carrier. In certain embodiments, the compositions
10 may further comprise another component, such as a therapeutic agent or a diagnostic agent. Diagnostic and therapeutic methods are also provided by the invention. In certain embodiments, the compositions are used in a therapeutically effective amount necessary to treat or prevent a particular disease or condition.

[0017] The invention also provides methods for treating or preventing a variety
15 of diseases and conditions such as, but not limited to, inflammation, cancer, atherogenesis, neurological disorders and cardiac disorders with an effective amount of an anti-M-CSF antibody of the invention, or antigen binding portion thereof, nucleic acids encoding said antibody, or heavy and/or light chain, the variable regions, or antigen-binding portions thereof.

20 [0018] The invention provides isolated cell lines, such as a hybridomas, that produce anti-M-CSF antibodies or antigen-binding portions thereof.

[0019] The invention also provides nucleic acid molecules encoding the heavy and/or light chains of anti-M-CSF antibodies, the variable regions thereof, or the antigen-binding portions thereof.

25 [0020] The invention provides vectors and host cells comprising the nucleic acid molecules, as well as methods of recombinantly producing the polypeptides encoded by the nucleic acid molecules.

[0021] Non-human transgenic animals or plants that express the heavy and/or light chains, or antigen-binding portions thereof, of anti-M-CSF antibodies are also
30 provided.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

- [0022] Figures 1A and 1B are graphs illustrating that the anti-M-CSF antibodies resulted in a dose-related decrease in total monocyte counts in male and female monkeys over time. The monocyte counts were determined by light scatter using an Abbott Diagnostics Inc. Cell Dyn system. Monocyte counts were monitored from 24 hours through 3 weeks after administration of vehicle or antibody 8.10.3 at 0, 0.1, 1 or 5 mg/kg in a dose volume of 3.79 mL/kg over an approximately 5 minute period.
- [0023] Figure 1A male monkeys.
- 10 [0024] Figure 1B female monkeys.
- [0025] Figures 2A and 2B are graphs illustrating that anti-M-CSF treatment resulted in a reduction in the percentage of CD14+CD16+ monocytes, in male and female monkeys. 0-21 days after administration of vehicle or antibody 8.10.3 at 0, 0.1, 1 or 5 mg/kg in a dose volume of 3.79 mL/kg over an approximately 5 minute period. For each monkey tested, the percentage of monocytes within the CD14+CD16+ subset was determined after each blood draw, on days 1, 3, 7, 14 and 21 after 8.10.3 injection.
- [0026] Figure 2A male monkeys.
- [0027] Figure 2B female monkeys.
- 20 [0028] Figures 3A and 3B are graphs illustrating that anti-M-CSF treatment resulted in a decrease in the percentage change of total monocytes at all doses of antibody 8.10.3F and antibody 9.14.4I as compared to pre-test levels of monocytes.
- [0029] Figure 3A shows data collected from experiments using antibody 8.10.3F.
- [0030] Figure 3B shows data collected from experiments using antibody 9.14.4I.
- 25 [0031] Figure 4 is a sequence alignment of the predicted amino acid sequences of light and heavy chain variable regions from twenty-six anti-M-CSF antibodies compared with the germline amino acid sequences of the corresponding variable region genes. Differences between the antibody sequences and the germline gene sequences are indicated in bold-faced type. Dashes represent no change from germline. The underlined sequences in each alignment represent, from left to right,
- 30 the FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 AND FR4 sequences.

- [0032] Figure 4A shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 252 (residues 21-127 of SEQ ID NO: 4) to the germline V_LO12, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).
- 5 [0033] Figure 4B shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 88 (residues 21-127 of SEQ ID NO: 8) to the germline V_LO12, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).
- [0034] Figure 4C shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 100 (residues 21-127 of SEQ ID NO: 12) to the germline V_LL2, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 107).
- 10 [0035] Figure 4D shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 3.8.3 (residues 23-130 of SEQ ID NO: 16) to the germline V_LL5, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 109).
- [0036] Figure 4E shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 2.7.3 (residues 23-130 of SEQ ID NO: 20) to the germline V_LL5, J_L4 sequence (SEQ ID NO: 117).
- 15 [0037] Figure 4F shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 1.120.1 (residues 21-134 of SEQ ID NO: 24) to the germline V_LB3, J_L1 sequence (SEQ ID NO: 112).
- [0038] Figure 4G shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 252 (residues 20-136 of SEQ ID NO: 2) to the germline V_H3-11, D_H7-27 J_H6 sequence (SEQ ID NO: 106).
- 20 [0039] Figure 4H shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 88 (residues 20-138 of SEQ ID NO: 6) to the germline V_H3-7, D_H6-13, J_H4 sequence (SEQ ID NO: 105).
- [0040] Figure 4I shows the alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 100 (residues 20-141 of SEQ ID NO: 10) to the germline V_H3-23, D_H1-26, J_H4 sequence (SEQ ID NO: 104).
- 25 [0041] Figure 4J shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 3.8.3 (residues 20-135 of SEQ ID NO: 14) to the germline V_H3-11, D_H7-27, J_H4 sequence (SEQ ID NO: 108).
- 30

[0042] Figure 4K shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 2.7.3 (residues 20-137 of SEQ ID NO: 18) to the germline V_H3-33, D_H1-26, J_H4 sequence (SEQ ID NO: 110).

5 [0043] Figure 4L shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 1.120.1 (residues 20-139 of SEQ ID NO: 22) to the germline V_H1-18, D_H4-23, J_H4 sequence (SEQ ID NO: 111).

[0044] Figure 4M shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 8.10.3 (residues 21-129 of SEQ ID NO: 44) to the germline V_LA27, J_L4 sequence (SEQ ID NO: 114).

10 [0045] Figure 4N shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 8.10.3 (residues 20-141 of SEQ ID NO: 30) to the germline V_H3-48, D_H1-26, J_H4b sequence (SEQ ID NO: 113).

[0046] Figure 4O shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 9.14.4 (residues 23-130 of SEQ ID NO: 28) to the germline V_LO12, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).

[0047] Figure 4P shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 9.14.4 (residues 20-135 of SEQ ID NO: 38) to the germline V_H3-11, D_H7-27, J_H4b sequence (SEQ ID NO: 116).

20 [0048] Figure 4Q shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 9.7.2 (residues 23-130 of SEQ ID NO: 48) to the germline V_LO12, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).

[0049] Figure 4R shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 9.7.2 (residues 20-136 of SEQ ID NO: 46) to the germline V_H3-11, D_H6-13, J_H6b sequence (SEQ ID NO: 115).

25 [0050] Figure 4S shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 9.14.4I (residues 23-130 of SEQ ID NO: 28) to the germline V_LO12 J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).

[0051] Figure 4T shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 9.14.4I (residues 20-135 of SEQ ID NO: 26) to the germline V_H3-11, D_H7-27, J_H4b sequence (SEQ ID NO: 116).

30

- [0052] Figure 4U shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 8.10.3F (residues 21-129 of SEQ ID NO: 32) to the germline V_LA27, J_L4 sequence (SEQ ID NO: 114).
- 5 [0053] Figure 4V shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 8.10.3F (residues 20-141 of SEQ ID NO: 30) to the germline V_H3-48, D_H1-26, J_H4b sequence (SEQ ID NO: 113).
- [0054] Figure 4W shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 9.7.2IF (residues 23-130 of SEQ ID NO: 36) to the germline V_LO12, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).
- 10 [0055] Figure 4X shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 9.7.2IF (residues 20-136 of SEQ ID NO: 34) to the germline V_H3-11, D_H6-13, J_H6b sequence (SEQ ID NO: 115).
- [0056] Figure 4Y shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 9.7.2C-Ser (residues 23-130 of SEQ ID NO: 52) to the germline V_LO12, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).
- 15 [0057] Figure 4Z shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 9.7.2C-Ser (residues 20-136 of SEQ ID NO: 50) to the germline V_H3-11, D_H6-13, J_H6b sequence (SEQ ID NO: 115).
- [0058] Figure 4AA shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 9.14.4C-Ser (residues 23-130 of SEQ ID NO: 56) to the germline V_LO12, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).
- 20 [0059] Figure 4BB shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 9.14.4C-Ser (residues 20-135 of SEQ ID NO: 54) to the germline V_H3-11, D_H7-27, J_H4b sequence (SEQ ID NO: 116).
- 25 [0060] Figure 4CC shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 8.10.3C-Ser (residues 21-129 of SEQ ID NO: 60) to the germline V_LA27, J_L4 sequence (SEQ ID NO: 114).
- [0061] Figure 4DD shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 8.10.3C-Ser (residues 20-141 of SEQ ID NO: 58) to the germline V_H3-48, D_H1-26, J_H4b sequence (SEQ ID NO: 113).
- 30

[0062] Figure 4EE shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 8.10.3-CG2 (residues 21-129 of SEQ ID NO: 60) to the germline V_LA27, J_L4 sequence (SEQ ID NO: 114).

5 [0063] Figure 4FF shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 8.10.3-CG2 (residues 20-141 of SEQ ID NO: 62) to the germline V_H3-48, D_H1-26, J_H4b sequence (SEQ ID NO: 113).

[0064] Figure 4GG shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 9.7.2-CG2 (residues 23-130 of SEQ ID NO: 52) to the germline V_LO12, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).

10 [0065] Figure 4HH shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 9.7.2-CG2 (residues 20-136 of SEQ ID NO: 66) to the germline V_H3-11, D_H6-13, J_H6b sequence (SEQ ID NO: 115).

[0066] Figure 4II shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 9.7.2-CG4 (residues 23-130 of SEQ ID NO: 52) to the germline V_LO12, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).

[0067] Figure 4JJ shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 9.7.2-CG4 (residues 20-135 of SEQ ID NO: 70) to the germline V_H3-11, D_H6-13, J_H6b sequence (SEQ ID NO: 115).

20 [0068] Figure 4KK shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 9.14.4-CG2 (residues 23-130 of SEQ ID NO: 56) to the germline V_LO12, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).

[0069] Figure 4LL shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 9.14.4-CG2 (residues 20-135 of SEQ ID NO: 74) to the germline V_H3-11, D_H7-27, J_H4b sequence (SEQ ID NO: 116).

25 [0070] Figure 4MM shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 9.14.4-CG4 (residues 23-130 of SEQ ID NO: 56) to the germline V_LO12, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).

[0071] Figure 4NN shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 9.14.4-CG4 (residues 20-135 of SEQ ID NO: 78) to the germline V_H3-11, D_H7-27, J_H4b sequence (SEQ ID NO: 116).

30

- [0072] Figure 4OO shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 9.14.4-Ser (residues 23-130 of SEQ ID NO: 28) to the germline V_LO12, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).
- 5 [0073] Figure 4PP shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 9.14.4-Ser (residues 20-135 of SEQ ID NO: 82) to the germline V_H3-11, D_H7-27, J_H4b sequence (SEQ ID NO: 116).
- [0074] Figure 4QQ shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 9.7.2-Ser (residues 23-130 of SEQ ID NO: 48) to the germline V_LO12, J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).
- 10 [0075] Figure 4RR shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 9.7.2-Ser (residues 20-136 of SEQ ID NO: 86) to the germline V_H3-11, D_H6-13, J_H6b sequence (SEQ ID NO: 115).
- [0076] Figure 4SS shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 8.10.3-Ser (residues 21-129 of SEQ ID NO: 44) to the germline V_LA27, J_L4 sequence (SEQ ID NO: 114).
- 15 [0077] Figure 4TT shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 8.10.3-Ser (residues 20-141 of SEQ ID NO: 90) to the germline V_H3-48, D_H1-26, J_H4b sequence (SEQ ID NO: 113).
- [0078] Figure 4UU shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 8.10.3-CG4 (residues 21-129 of SEQ ID NO: 60) to the germline V_LA27, J_L4 sequence (SEQ ID NO: 114).
- 20 [0079] Figure 4VV shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 8.10.3-CG4 (residues 20-141 of SEQ ID NO: 94) to the germline V_H3-48, D_H1-26, J_H4b sequence (SEQ ID NO: 113).
- 25 [0080] Figure 4WW shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 9.14.4G1 (residues 23-130 of SEQ ID NO: 28) to the germline V_LO12 J_L3 sequence (SEQ ID NO: 103).
- [0081] Figure 4XX shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 9.14.4G1 (residues 20-135 of SEQ ID NO: 102) to the germline V_H3-11, D_H7-27, J_H4b sequence (SEQ ID NO: 116).
- 30

[0082] Figure 4YY shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the light chain variable region for antibody 8.10.3FG1 (residues 21-129 of SEQ ID NO:32) to the germline V_LA27, J_L4 sequence (SEQ ID NO: 114).

5 [0083] Figure 4ZZ shows an alignment of the predicted amino acid sequence of the heavy chain variable region for antibody 8.10.3FG1 (residues 20-141 of SEQ ID NO: 98) to the germline V_H3-48, D_H1-26, J_H4b sequence (SEQ ID NO: 113).

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

Definitions and General Techniques

10 [0084] Unless otherwise defined herein, scientific and technical terms used in connection with the present invention shall have the meanings that are commonly understood by those of ordinary skill in the art. Further, unless otherwise required by context, singular terms shall include pluralities and plural terms shall include the singular. Generally, nomenclatures used in connection with, and techniques of, cell and tissue culture, molecular biology, immunology, microbiology, genetics
15 and protein and nucleic acid chemistry and hybridization described herein are those well known and commonly used in the art.

[0085] The methods and techniques of the present invention are generally performed according to conventional methods well known in the art and as described in various general and more specific references that are cited and
20 discussed throughout the present specification unless otherwise indicated. See, e.g., Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989) and Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates (1992), and Harlow and Lane *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring
25 Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990), which are incorporated herein by reference. Enzymatic reactions and purification techniques are performed according to manufacturer's specifications, as commonly accomplished in the art or as described herein. The nomenclatures used in connection with, and the laboratory procedures and techniques of, analytical chemistry, synthetic
30 organic chemistry, and medicinal and pharmaceutical chemistry described herein are those well known and commonly used in the art. Standard techniques are used

for chemical syntheses, chemical analyses, pharmaceutical preparation, formulation, and delivery, and treatment of patients.

[0086] The following terms, unless otherwise indicated, shall be understood to have the following meanings:

- 5 [0087] The term "polypeptide" encompasses native or artificial proteins, protein fragments and polypeptide analogs of a protein sequence. A polypeptide may be monomeric or polymeric.

- [0088] The term "isolated protein", "isolated polypeptide" or "isolated antibody" is a protein, polypeptide or antibody that by virtue of its origin or source of
10 derivation has one to four of the following: (1) is not associated with naturally associated components that accompany it in its native state, (2) is free of other proteins from the same species, (3) is expressed by a cell from a different species, or (4) does not occur in nature. Thus, a polypeptide that is chemically synthesized or synthesized in a cellular system different from the cell from which it naturally
15 originates will be "isolated" from its naturally associated components. A protein may also be rendered substantially free of naturally associated components by isolation, using protein purification techniques well known in the art.

- [0089] Examples of isolated antibodies include an anti-M-CSF antibody that has been affinity purified using M-CSF, an anti-M-CSF antibody that has been
20 synthesized by a hybridoma or other cell line *in vitro*, and a human anti-M-CSF antibody derived from a transgenic mouse.

- [0090] A protein or polypeptide is "substantially pure," "substantially homogeneous," or "substantially purified" when at least about 60 to 75% of a sample exhibits a single species of polypeptide. The polypeptide or protein may be
25 monomeric or multimeric. A substantially pure polypeptide or protein will typically comprise about 50%, 60%, 70%, 80% or 90% W/W of a protein sample, more usually about 95%, and preferably will be over 99% pure. Protein purity or homogeneity may be indicated by a number of means well known in the art, such as polyacrylamide gel electrophoresis of a protein sample, followed by visualizing
30 a single polypeptide band upon staining the gel with a stain well known in the art. For certain purposes, higher resolution may be provided by using HPLC or other means well known in the art for purification.

[0091] The term "polypeptide fragment" as used herein refers to a polypeptide that has an amino-terminal and/or carboxy-terminal deletion, but where the remaining amino acid sequence is identical to the corresponding positions in the naturally-occurring sequence. In some embodiments, fragments are at least 5, 6, 8
5 or 10 amino acids long. In other embodiments, the fragments are at least 14, at least 20, at least 50, or at least 70, 80, 90, 100, 150 or 200 amino acids long.

[0092] The term "polypeptide analog" as used herein refers to a polypeptide that comprises a segment that has substantial identity to a portion of an amino acid sequence and that has at least one of the following properties: (1) specific binding
10 to M-CSF under suitable binding conditions, (2) ability to inhibit M-CSF.

[0093] Typically, polypeptide analogs comprise a conservative amino acid substitution (or insertion or deletion) with respect to the normally-occurring sequence. Analogs typically are at least 20 or 25 amino acids long, preferably at least 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150 or 200 amino acids long or longer, and can often
15 be as long as a full-length polypeptide.

[0094] In certain embodiments, amino acid substitutions of the antibody or antigen-binding portion thereof are those which: (1) reduce susceptibility to proteolysis, (2) reduce susceptibility to oxidation, (3) alter binding affinity for forming protein complexes, or (4) confer or modify other physicochemical or
20 functional properties of such analogs. Analogs can include various mutants of a sequence other than the normally-occurring peptide sequence. For example, single or multiple amino acid substitutions (preferably conservative amino acid substitutions) may be made in the normally-occurring sequence, preferably in the portion of the polypeptide outside the domain(s) forming intermolecular contacts.

[0095] A conservative amino acid substitution should not substantially change the structural characteristics of the parent sequence; e.g., a replacement amino acid should not alter the anti-parallel β -sheet that makes up the immunoglobulin binding domain that occurs in the parent sequence, or disrupt other types of secondary structure that characterizes the parent sequence. In general, glycine and
30 proline analogs would not be used in an anti-parallel β -sheet. Examples of art-recognized polypeptide secondary and tertiary structures are described in *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W. H. Freeman

and Company, New York (1984)); *Introduction to Protein Structure* (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); and Thornton *et al.*, *Nature* 354:105 (1991), which are each incorporated herein by reference.

[0096] Non-peptide analogs are commonly used in the pharmaceutical industry as drugs with properties analogous to those of the template peptide. These types of non-peptide compound are termed "peptide mimetics" or "peptidomimetics." Fauchere, *J. Adv. Drug Res.* 15:29 (1986); Veber and Freidinger, *TINS* p.392 (1985); and Evans *et al.*, *J. Med. Chem.* 30:1229 (1987), which are incorporated herein by reference. Such compounds are often developed with the aid of computerized molecular modeling. Peptide mimetics that are structurally similar to therapeutically useful peptides may be used to produce an equivalent therapeutic or prophylactic effect. Generally, peptidomimetics are structurally similar to a paradigm polypeptide (i.e., a polypeptide that has a desired biochemical property or pharmacological activity), such as a human antibody, but have one or more peptide linkages optionally replaced by a linkage selected from the group consisting of: $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ (cis and trans), $-\text{COCH}_2-$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$, and $-\text{CH}_2\text{SO}-$, by methods well known in the art. Systematic substitution of one or more amino acids of a consensus sequence with a D-amino acid of the same type (e.g., D-lysine in place of L-lysine) may also be used to generate more stable peptides. In addition, constrained peptides comprising a consensus sequence or a substantially identical consensus sequence variation may be generated by methods known in the art (Rizo and Gierasch, *Ann. Rev. Biochem.* 61:387 (1992), incorporated herein by reference); for example, by adding internal cysteine residues capable of forming intramolecular disulfide bridges which cyclize the peptide.

[0097] An "antibody" refers to an intact antibody or an antigen-binding portion that competes with the intact antibody for specific binding. See generally, *Fundamental Immunology*, Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)) (incorporated by reference in its entirety for all purposes). Antigen-binding portions may be produced by recombinant DNA techniques or by enzymatic or chemical cleavage of intact antibodies. In some embodiments, antigen-binding portions include Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, Fv, dAb, and complementarity determining

region (CDR) fragments, single-chain antibodies (scFv), chimeric antibodies, diabodies and polypeptides that contain at least a portion of an antibody that is sufficient to confer specific antigen binding to the polypeptide.

- [0098] From N-terminus to C-terminus, both the mature light and heavy chain variable domains comprise the regions FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 and FR4. The assignment of amino acids to each domain is in accordance with the definitions of Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991)), Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987), or Chothia *et al.*, *Nature* 342:878-883 (1989).
- 5 [0099] As used herein, an antibody that is referred to by number is the same as a monoclonal antibody that is obtained from the hybridoma of the same number. For example, monoclonal antibody 3.8.3 is the same antibody as one obtained from hybridoma 3.8.3.
- 10 [0100] As used herein, a Fd fragment means an antibody fragment that consists of the V_H and C_H 1 domains; an Fv fragment consists of the V_L and V_H domains of a single arm of an antibody; and a dAb fragment (Ward *et al.*, *Nature* 341:544-546 (1989)) consists of a V_H domain.
- 15 [0101] In some embodiments, the antibody is a single-chain antibody (scFv) in which a V_L and V_H domains are paired to form a monovalent molecules via a synthetic linker that enables them to be made as a single protein chain. (Bird *et al.*, *Science* 242:423-426 (1988) and Huston *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883 (1988).) In some embodiments, the antibodies are diabodies, i.e., are bivalent antibodies in which V_H and V_L domains are expressed on a single polypeptide chain, but using a linker that is too short to allow for pairing between
- 20 the two domains on the same chain, thereby forcing the domains to pair with complementary domains of another chain and creating two antigen binding sites. (See e.g., Holliger P. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993), and Poljak R. J. *et al.*, *Structure* 2:1121-1123 (1994).) In some embodiments, one or more CDRs from an antibody of the invention may be incorporated into a molecule
- 25 either covalently or noncovalently to make it an immunoadhesin that specifically binds to M-CSF. In such embodiments, the CDR(s) may be incorporated as part of
- 30

a larger polypeptide chain, may be covalently linked to another polypeptide chain, or may be incorporated noncovalently.

[0102] In embodiments having one or more binding sites, the binding sites may be identical to one another or may be different.

5 [0103] As used herein, the term "human antibody" means any antibody in which the variable and constant domain sequences are human sequences. The term encompasses antibodies with sequences derived from human genes, but which have been changed, e.g. to decrease possible immunogenicity, increase affinity, eliminate cysteines that might cause undesirable folding, etc. The term
10 encompasses such antibodies produced recombinantly in non-human cells, which might impart glycosylation not typical of human cells. These antibodies may be prepared in a variety of ways, as described below.

[0104] The term "chimeric antibody" as used herein means an antibody that comprises regions from two or more different antibodies. In one embodiment, one
15 or more of the CDRs are derived from a human anti-M-CSF antibody. In another embodiment, all of the CDRs are derived from a human anti-M-CSF antibody. In another embodiment, the CDRs from more than one human anti-M-CSF antibodies are combined in a chimeric antibody. For instance, a chimeric antibody may comprise a CDR1 from the light chain of a first human anti-M-CSF antibody, a
20 CDR2 from the light chain of a second human anti-M-CSF antibody and a CDR3 from the light chain of a third human anti-M-CSF antibody, and the CDRs from the heavy chain may be derived from one or more other anti-M-CSF antibodies. Further, the framework regions may be derived from one of the anti-M-CSF antibodies from which one or more of the CDRs are taken or from one or more
25 different human antibodies.

[0105] Fragments or analogs of antibodies or immunoglobulin molecules can be readily prepared by those of ordinary skill in the art following the teachings of this specification. Preferred amino- and carboxy-termini of fragments or analogs occur near boundaries of functional domains. Structural and functional domains can be
30 identified by comparison of the nucleotide and/or amino acid sequence data to public or proprietary sequence databases. Preferably, computerized comparison methods are used to identify sequence motifs or predicted protein conformation

domains that occur in other proteins of known structure and/or function. Methods to identify protein sequences that fold into a known three-dimensional structure are known. See Bowie *et al.*, *Science* 253:164 (1991).

[0106] The term "surface plasmon resonance", as used herein, refers to an optical phenomenon that allows for the analysis of real-time biospecific interactions by detection of alterations in protein concentrations within a biosensor matrix, for example using the BIACORE™ system (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.). For further descriptions, see Jonasson U. *et al.*, *Ann. Biol. Clin.* 51:19-26 (1993); Jonasson U. *et al.*, *Biotechniques* 11:620-627 (1991); Jonsson B. *et al.*, *J. Mol. Recognit.* 8:125-131 (1995); and Jonsson B. *et al.*, *Anal. Biochem.* 198:268-277 (1991).

[0107] The term " K_D " refers to the equilibrium dissociation constant of a particular antibody-antigen interaction.

[0108] The term "epitope" includes any protein determinant capable of specific binding to an immunoglobulin or T-cell receptor or otherwise interacting with a molecule. Epitopic determinants generally consist of chemically active surface groupings of molecules such as amino acids or sugar side chains and generally have specific three dimensional structural characteristics, as well as specific charge characteristics. An epitope may be "linear" or "conformational." In a linear epitope, all of the points of interaction between the protein and the interacting molecule (such as an antibody) occur linearly along the primary amino acid sequence of the protein. In a conformational epitope, the points of interaction occur across amino acid residues on the protein that are separated from one another. An antibody is said to specifically bind an antigen when the dissociation constant is ≤ 1 mM, preferably ≤ 100 nM and most preferably ≤ 10 nM. In certain embodiments, the K_D is 1 pM to 500 pM. In other embodiments, the K_D is between 500 pM to 1 μ M. In other embodiments, the K_D is between 1 μ M to 100 nM. In other embodiments, the K_D is between 100 mM to 10 nM. Once a desired epitope on an antigen is determined, it is possible to generate antibodies to that epitope, e.g., using the techniques described in the present invention. Alternatively, during the discovery process, the generation and characterization of antibodies may elucidate information about desirable epitopes. From this

information, it is then possible to competitively screen antibodies for binding to the same epitope. An approach to achieve this is to conduct cross-competition studies to find antibodies that competitively bind with one another, e.g., the antibodies compete for binding to the antigen. A high throughout process for "binning" antibodies based upon their cross-competition is described in International Patent Application No. WO 03/48731.

[0109] As used herein, the twenty conventional amino acids and their abbreviations follow conventional usage. See *Immunology - A Synthesis* (2nd Edition, E.S. Golub and D.R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991)), which is incorporated herein by reference.

[0110] The term "polynucleotide" as referred to herein means a polymeric form of nucleotides of at least 10 bases in length, either ribonucleotides or deoxynucleotides or a modified form of either type of nucleotide. The term includes single and double stranded forms.

[0111] The term "isolated polynucleotide" as used herein means a polynucleotide of genomic, cDNA, or synthetic origin or some combination thereof, which by virtue of its origin or source of derivation, the "isolated polynucleotide" has one to three of the following: (1) is not associated with all or a portion of a polynucleotides with which the "isolated polynucleotide" is found in nature, (2) is operably linked to a polynucleotide to which it is not linked in nature, or (3) does not occur in nature as part of a larger sequence.

[0112] The term "oligonucleotide" as used herein includes naturally occurring, and modified nucleotides linked together by naturally occurring and non-naturally occurring oligonucleotide linkages. Oligonucleotides are a polynucleotide subset generally comprising a length of 200 bases or fewer. Preferably oligonucleotides are 10 to 60 bases in length and most preferably 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, or 20 to 40 bases in length. Oligonucleotides are usually single stranded, e.g. for primers and probes; although oligonucleotides may be double stranded, e.g. for use in the construction of a gene mutant. Oligonucleotides of the invention can be either sense or antisense oligonucleotides.

[0113] The term "naturally occurring nucleotides" as used herein includes deoxyribonucleotides and ribonucleotides. The term "modified nucleotides" as

used herein includes nucleotides with modified or substituted sugar groups and the like. The term "oligonucleotide linkages" referred to herein includes oligonucleotides linkages such as phosphorothioate, phosphorodithioate, phosphoroselenoate, phosphorodiselenoate, phosphoroanilothioate, phosphoramidate, and the like. See e.g., LaPlanche *et al.*, *Nucl. Acids Res.* 14:9081 (1986); Stec *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 106:6077 (1984); Stein *et al.*, *Nucl. Acids Res.* 16:3209 (1988); Zon *et al.*, *Anti-Cancer Drug Design* 6:539 (1991); Zon *et al.*, *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, pp. 87-108 (F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991)); U.S. Patent No. 5,151,510; Uhlmann and Peyman, *Chemical Reviews* 90:543 (1990), the disclosures of which are hereby incorporated by reference. An oligonucleotide can include a label for detection, if desired.

[0114] "Operably linked" sequences include both expression control sequences that are contiguous with the gene of interest and expression control sequences that act in *trans* or at a distance to control the gene of interest. The term "expression control sequence" as used herein means polynucleotide sequences that are necessary to effect the expression and processing of coding sequences to which they are ligated. Expression control sequences include appropriate transcription initiation, termination, promoter and enhancer sequences; efficient RNA processing signals such as splicing and polyadenylation signals; sequences that stabilize cytoplasmic mRNA; sequences that enhance translation efficiency (i.e., Kozak consensus sequence); sequences that enhance protein stability; and when desired, sequences that enhance protein secretion. The nature of such control sequences differs depending upon the host organism; in prokaryotes, such control sequences generally include promoter, ribosomal binding site, and transcription termination sequence; in eukaryotes, generally, such control sequences include promoters and transcription termination sequence. The term "control sequences" is intended to include, at a minimum, all components whose presence is essential for expression and processing, and can also include additional components whose presence is advantageous, for example, leader sequences and fusion partner sequences.

[0115] The term "vector", as used herein, means a nucleic acid molecule capable of transporting another nucleic acid to which it has been linked. In some embodiments, the vector is a plasmid, i.e., a circular double stranded DNA loop into which additional DNA segments may be ligated. In some embodiments, the vector is a viral vector, wherein additional DNA segments may be ligated into the viral genome. In some embodiments, the vectors are capable of autonomous replication in a host cell into which they are introduced (e.g., bacterial vectors having a bacterial origin of replication and episomal mammalian vectors). In other embodiments, the vectors (e.g., non-episomal mammalian vectors) can be integrated into the genome of a host cell upon introduction into the host cell, and thereby are replicated along with the host genome. Moreover, certain vectors are capable of directing the expression of genes to which they are operatively linked. Such vectors are referred to herein as "recombinant expression vectors" (or simply, "expression vectors").

[0116] The term "recombinant host cell" (or simply "host cell"), as used herein, means a cell into which a recombinant expression vector has been introduced. It should be understood that "recombinant host cell" and "host cell" mean not only the particular subject cell but also the progeny of such a cell. Because certain modifications may occur in succeeding generations due to either mutation or environmental influences, such progeny may not, in fact, be identical to the parent cell, but are still included within the scope of the term "host cell" as used herein.

[0117] The term "selectively hybridize" referred to herein means to detectably and specifically bind. Polynucleotides, oligonucleotides and fragments thereof in accordance with the invention selectively hybridize to nucleic acid strands under hybridization and wash conditions that minimize appreciable amounts of detectable binding to nonspecific nucleic acids. "High stringency" or "highly stringent" conditions can be used to achieve selective hybridization conditions as known in the art and discussed herein. One example of "high stringency" or "highly stringent" conditions is the incubation of a polynucleotide with another polynucleotide, wherein one polynucleotide may be affixed to a solid surface such as a membrane, in a hybridization buffer of 6X SSPE or SSC, 50% formamide, 5X Denhardt's reagent, 0.5% SDS, 100 µg/ml denatured, fragmented salmon sperm

DNA at a hybridization temperature of 42°C for 12-16 hours, followed by twice washing at 55°C using a wash buffer of 1X SSC, 0.5% SDS. See also Sambrook *et al.*, *supra*, pp. 9.50-9.55.

[0118] The term "percent sequence identity" in the context of nucleic acid sequences means the percent of residues when a first contiguous sequence is compared and aligned for maximum correspondence to a second contiguous sequence. The length of sequence identity comparison may be over a stretch of at least about nine nucleotides, usually at least about 18 nucleotides, more usually at least about 24 nucleotides, typically at least about 28 nucleotides, more typically at least about 32 nucleotides, and preferably at least about 36, 48 or more nucleotides. There are a number of different algorithms known in the art which can be used to measure nucleotide sequence identity. For instance, polynucleotide sequences can be compared using FASTA, Gap or Bestfit, which are programs in Wisconsin Package Version 10.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin. FASTA, which includes, e.g., the programs FASTA2 and FASTA3, provides alignments and percent sequence identity of the regions of the best overlap between the query and search sequences (Pearson, *Methods Enzymol.* 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.* 132:185-219 (2000); Pearson, *Methods Enzymol.* 266:227-258 (1996); Pearson, *J. Mol. Biol.* 276:71-84 (1998); herein incorporated by reference). Unless otherwise specified, default parameters for a particular program or algorithm are used. For instance, percent sequence identity between nucleic acid sequences can be determined using FASTA with its default parameters (a word size of 6 and the NOPAM factor for the scoring matrix) or using Gap with its default parameters as provided in GCG Version 6.1, herein incorporated by reference.

[0119] A reference to a nucleotide sequence encompasses its complement unless otherwise specified. Thus, a reference to a nucleic acid having a particular sequence should be understood to encompass its complementary strand, with its complementary sequence.

[0120] The term "percent sequence identity" means a ratio, expressed as a percent of the number of identical residues over the number of residues compared.

[0121] The term "substantial similarity" or "substantial sequence similarity," when referring to a nucleic acid or fragment thereof, means that when optimally aligned with appropriate nucleotide insertions or deletions with another nucleic acid (or its complementary strand), there is nucleotide sequence identity in at least about 85%, preferably at least about 90%, and more preferably at least about 95%, 96%, 97%, 98% or 99% of the nucleotide bases, as measured by any well-known algorithm of sequence identity, such as FASTA, BLAST or Gap, as discussed above.

[0122] As applied to polypeptides, the term "substantial identity" means that two peptide sequences, when optimally aligned, such as by the programs GAP or BESTFIT using default gap weights, as supplied with the programs, share at least 70%, 75% or 80% sequence identity, preferably at least 90% or 95% sequence identity, and more preferably at least 97%, 98% or 99% sequence identity. In certain embodiments, residue positions that are not identical differ by conservative amino acid substitutions. A "conservative amino acid substitution" is one in which an amino acid residue is substituted by another amino acid residue having a side chain R group with similar chemical properties (e.g., charge or hydrophobicity). In general, a conservative amino acid substitution will not substantially change the functional properties of a protein. In cases where two or more amino acid sequences differ from each other by conservative substitutions, the percent sequence identity may be adjusted upwards to correct for the conservative nature of the substitution. Means for making this adjustment are well-known to those of skill in the art. See, e.g., Pearson, *Methods Mol. Biol.* 243:307-31 (1994). Examples of groups of amino acids that have side chains with similar chemical properties include 1) aliphatic side chains: glycine, alanine, valine, leucine, and isoleucine; 2) aliphatic-hydroxyl side chains: serine and threonine; 3) amide-containing side chains: asparagine and glutamine; 4) aromatic side chains: phenylalanine, tyrosine, and tryptophan; 5) basic side chains: lysine, arginine, and histidine; 6) acidic side chains: aspartic acid and glutamic acid; and 7) sulfur-containing side chains: cysteine and methionine. Conservative amino acids substitution groups are: valine-leucine-isoleucine, phenylalanine-tyrosine, lysine-arginine, alanine-valine, glutamate-aspartate, and asparagine-glutamine.

[0123] Alternatively, a conservative replacement is any change having a positive value in the PAM250 log-likelihood matrix disclosed in Gonnet *et al.*, *Science* 256:1443-45 (1992), herein incorporated by reference. A "moderately conservative" replacement is any change having a nonnegative value in the PAM250 log-likelihood matrix.

[0124] Sequence identity for polypeptides, is typically measured using sequence analysis software. Protein analysis software matches sequences using measures of similarity assigned to various substitutions, deletions and other modifications, including conservative amino acid substitutions. For instance, GCG contains programs such as "Gap" and "Bestfit" which can be used with default parameters, as specified with the programs, to determine sequence homology or sequence identity between closely related polypeptides, such as homologous polypeptides from different species of organisms or between a wild type protein and a mutein thereof. See, e.g., GCG Version 6.1. Polypeptide sequences also can be compared using FASTA using default or recommended parameters, see GCG Version 6.1. (University of Wisconsin WI) FASTA (e.g., FASTA2 and FASTA3) provides alignments and percent sequence identity of the regions of the best overlap between the query and search sequences (Pearson, *Methods Enzymol.* 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.* 132:185-219 (2000)). Another preferred algorithm when comparing a sequence of the invention to a database containing a large number of sequences from different organisms is the computer program BLAST, especially blastp or tblastn, using default parameters, as supplied with the programs. See, e.g., Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990); Altschul *et al.*, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402 (1997).

[0125] The length of polypeptide sequences compared for homology will generally be at least about 16 amino acid residues, usually at least about 20 residues, more usually at least about 24 residues, typically at least about 28 residues, and preferably more than about 35 residues. When searching a database containing sequences from a large number of different organisms, it is preferable to compare amino acid sequences.

[0126] As used herein, the terms "label" or "labeled" refers to incorporation of another molecule in the antibody. In one embodiment, the label is a detectable

marker, e.g., incorporation of a radiolabeled amino acid or attachment to a polypeptide of biotinyl moieties that can be detected by marked avidin (e.g., streptavidin containing a fluorescent marker or enzymatic activity that can be detected by optical or colorimetric methods). In another embodiment, the label or
5 marker can be therapeutic, e.g., a drug conjugate or toxin. Various methods of labeling polypeptides and glycoproteins are known in the art and may be used. Examples of labels for polypeptides include, but are not limited to, the following: radioisotopes or radionuclides (e.g., ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), fluorescent labels (e.g., FITC, rhodamine, lanthanide phosphors), enzymatic labels
10 (e.g., horseradish peroxidase, β -galactosidase, luciferase, alkaline phosphatase), chemiluminescent markers, biotinyl groups, predetermined polypeptide epitopes recognized by a secondary reporter (e.g., leucine zipper pair sequences, binding sites for secondary antibodies, metal binding domains, epitope tags), magnetic agents, such as gadolinium chelates, toxins such as pertussis toxin, taxol, cytochalasin B, gramicidin D, ethidium bromide, emetine, mitomycin, etoposide,
15 tenoposide, vincristine, vinblastine, colchicin, doxorubicin, daunorubicin, dihydroxy anthracin dione, mitoxantrone, mithramycin, actinomycin D, 1-dehydrotestosterone, glucocorticoids, procaine, tetracaine, lidocaine, propranolol, and puromycin and analogs or homologs thereof. In some
20 embodiments, labels are attached by spacer arms of various lengths to reduce potential steric hindrance.

[0127] Throughout this specification and claims, the word "comprise," or variations such as "comprises" or "comprising," will be understood to imply the inclusion of a stated integer or group of integers but not the exclusion of any other
25 integer or group of integers.

Human Anti-M-CSF Antibodies and Characterization Thereof

[0128] In one embodiment, the invention provides humanized anti-M-CSF antibodies. In another embodiment, the invention provides human anti-M-CSF antibodies. In some embodiments, human anti-M-CSF antibodies are produced by
30 immunizing a non-human transgenic animal, e.g., a rodent, whose genome comprises human immunoglobulin genes so that the rodent produces human antibodies.

[0129] An anti-M-CSF antibody of the invention can comprise a human kappa or a human lamda light chain or an amino acid sequence derived therefrom. In some embodiments comprising a kappa light chain, the light chain variable domain (V_L) is encoded in part by a human V_κO12, V_κL2, V_κL5, V_κA27 or V_κB3 gene and a
5 J_κ1, J_κ2, J_κ3, or J_κ4 gene. In particular embodiments of the invention, the light chain variable domain is encoded by V_κO12/J_κ3, V_κL2/J_κ3, V_κL5/J_κ3, V_κL5/J_κ4, V_κA27/J_κ4 or V_κB3/J_κ1 gene.

[0130] In some embodiments, the V_L of the M-CSF antibody comprises one or more amino acid substitutions relative to the germline amino acid sequence. In
10 some embodiments, the V_L of the anti-M-CSF antibody comprises 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 10 amino acid substitutions relative to the germline amino acid sequence. In some embodiments, one or more of those substitutions from germline is in the CDR regions of the light chain. In some embodiments, the amino acid substitutions relative to germline are at one or more of the same positions as the
15 substitutions relative to germline in any one or more of the V_L of antibodies 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1. For example, the V_L of the anti-M-CSF antibody may contain one or
20 more amino acid substitutions compared to germline found in the V_L of antibody 88, and other amino acid substitutions compared to germline found in the V_L of antibody 252 which utilizes the same V_K gene as antibody 88. In some embodiments, the amino acid changes are at one or more of the same positions but involve a different mutation than in the reference antibody.

[0131] In some embodiments, amino acid changes relative to germline occur at
25 one or more of the same positions as in any of the V_L of antibodies 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1, but
30 the changes may represent conservative amino acid substitutions at such position(s) relative to the amino acid in the reference antibody. For example, if a particular position in one of these antibodies is changed relative to germline and is

glutamate, one may substitute aspartate at that position. Similarly, if an amino acid substitution compared to germline is serine, one may substitute threonine for serine at that position. Conservative amino acid substitutions are discussed *supra*.

- [0132] In some embodiments, the light chain of the human anti-M-CSF antibody comprises the amino acid sequence that is the same as the amino acid sequence of the V_L of antibody 252 (SEQ ID NO: 4), 88 (SEQ ID NO: 8), 100 (SEQ ID NO: 12), 3.8.3 (SEQ ID NO: 16), 2.7.3 (SEQ ID NO: 20), 1.120.1 (SEQ ID NO: 24), 9.14.4I (SEQ ID NO: 28), 8.10.3F (SEQ ID NO: 32), 9.7.2IF (SEQ ID NO: 36), 9.14.4 (SEQ ID NO: 28), 8.10.3 (SEQ ID NO: 44), 9.7.2 (SEQ ID NO: 48), 9.7.2C-Ser (SEQ ID NO: 52), 9.14.4C-Ser (SEQ ID NO: 56), 8.10.3C-Ser (SEQ ID NO: 60), 8.10.3-CG2 (SEQ ID NO: 60), 9.7.2-CG2 (SEQ ID NO: 52), 9.7.2-CG4 (SEQ ID NO: 52), 9.14.4-CG2 (SEQ ID NO: 56), 9.14.4-CG4 (SEQ ID NO: 56), 9.14.4-Ser (SEQ ID NO: 28), 9.7.2-Ser (SEQ ID NO: 48), 8.10.3-Ser (SEQ ID NO: 44), 8.10.3-CG4 (SEQ ID NO: 60) 8.10.3FG1 (SEQ ID NO: 32) or 9.14.4G1 (SEQ ID NO: 28), or said amino acid sequence having up to 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 10 conservative amino acid substitutions and/or a total of up to 3 non-conservative amino acid substitutions. In some embodiments, the light chain comprises the amino acid sequence from the beginning of the CDR1 to the end of the CDR3 of any one of the foregoing antibodies.
- [0133] In some embodiments, the light chain of the anti-M-CSF antibody comprises at least the light chain CDR1, CDR2 or CDR3 of a germline or antibody sequence, as described herein. In another embodiment, the light chain may comprise a CDR1, CDR2 or CDR3 regions of an antibody independently selected from 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1, or CDR regions each having less than 4 or less than 3 conservative amino acid substitutions and/or a total of three or fewer non-conservative amino acid substitutions. In other embodiments, the light chain of the anti-M-CSF antibody comprises the light chain CDR1, CDR2 or CDR3, each of which are independently selected from the CDR1, CDR2 and CDR3 regions of an antibody having a light chain variable region comprising the amino acid sequence

- of the V_L region selected from SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 or 60, or encoded by a nucleic acid molecule encoding the V_L region selected from SEQ ID NOS: 3, 7, 11, 27, 31, 35, 43 or 47. The light chain of the anti-M-CSF antibody may comprise the CDR1, CDR2 and CDR3 regions of an antibody comprising the amino acid sequence of the V_L region selected from 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1 or SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 or 60.
- 10 [0134] In some embodiments, the light chain comprises the CDR1, CDR2 and CDR3 regions of antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1, or said CDR regions each having less than 4
- 15 or less than 3 conservative amino acid substitutions and/or a total of three or fewer non-conservative amino acid substitutions.
- [0135] With regard to the heavy chain, in some embodiments, the variable region of the heavy chain amino acid sequence is encoded in part by a human V_H3-11, V_H3-23, V_H3-7, V_H1-18, V_H3-33, V_H3-48 gene and a J_H4, J_H6, J_H4b, or J_H6b gene.
- 20 In a particular embodiment of the invention, the heavy chain variable region is encoded by V_H3-11/D_H7-27/J_H6, V_H3-7/D_H6-13/J_H4, V_H3-23/D_H1-26/J_H4, V_H3-11/D_H7-27/J_H4, V_H3-33/D_H1-26/J_H4, V_H1-18/D_H4-23/J_H4, V_H3-11/D_H7-27/J_H4b, V_H3-48/D_H1-26/J_H4b, V_H3-11/D_H6-13/J_H6b, V_H3-11/D_H7-27/J_H4b, V_H3-48/D_H1-6/J_H4b, or V_H3-11/D_H6-13/J_H6b gene. In some embodiments, the V_H of the anti-
- 25 M-CSF antibody contains one or more amino acid substitutions, deletions or insertions (additions) relative to the germline amino acid sequence. In some embodiments, the variable domain of the heavy chain comprises 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, or 18 mutations from the germline amino acid sequence. In some embodiments, the mutation(s) are non-conservative
- 30 substitutions compared to the germline amino acid sequence. In some embodiments, the mutations are in the CDR regions of the heavy chain. In some embodiments, the amino acid changes are made at one or more of the same

positions as the mutations from germline in any one or more of the V_H of antibodies 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 5 8.10.3FG1 or 9.14.4G1. In other embodiments, the amino acid changes are at one or more of the same positions but involve a different mutation than in the reference antibody.

[0136] In some embodiments, the heavy chain comprises an amino acid sequence of the variable domain (V_H) of antibody 252 (SEQ ID NO: 2), 88 (SEQ ID NO: 6), 10 100 (SEQ ID NO: 10), 3.8.3 (SEQ ID NO: 14), 2.7.3 (SEQ ID NO: 18), 1.120.1 (SEQ ID NO: 22), 9.14.4I (SEQ ID NO: 26), 8.10.3F (SEQ ID NO: 30), 9.7.2IF (SEQ ID NO: 34), 9.14.4 (SEQ ID NO: 38), 8.10.3 (SEQ ID NO: 30), 9.7.2 (SEQ ID NO: 46), 9.7.2C-Ser (SEQ ID NO: 50), 9.14.4C-Ser (SEQ ID NO: 54), 8.10.3C-Ser (SEQ ID NO: 58), 8.10.3-CG2 (SEQ ID NO: 62), 9.7.2-CG2 (SEQ ID NO: 66), 9.7.2-CG4 (SEQ ID NO: 70), 9.14.4-CG2 (SEQ ID NO: 74), 9.14.4-CG4 (SEQ ID NO: 78), 9.14.4-Ser (SEQ ID NO: 82), 9.7.2-Ser (SEQ ID NO: 86), 15 8.10.3-Ser (SEQ ID NO: 90), 8.10.3-CG4 (SEQ ID NO: 94), 8.10.3FG1 (SEQ ID NO: 98) or 9.14.4G1 (SEQ ID NO: 102), or said amino acid sequence having up to 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 10 conservative amino acid substitutions and/or a total of up to 3 non-conservative amino acid substitutions. In some embodiments, the heavy chain comprises the amino acid sequence from the beginning of the CDR1 to the end of the CDR3 of any one of the foregoing antibodies.

[0137] In some embodiments, the heavy chain comprises the heavy chain CDR1, CDR2 and CDR3 regions of antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 25 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1, or said CDR regions each having less than 8, less than 6, less than 4, or less than 3 conservative amino acid substitutions and/or a total of three or fewer non-conservative amino acid 30 substitutions.

[0138] In some embodiments, the heavy chain comprises a germline or antibody CDR3, as described above, of an antibody sequence as described herein, and may

also comprise the CDR1 and CDR2 regions of a germline sequence, or may comprise a CDR1 and CDR2 of an antibody sequence, each of which are independently selected from an antibody comprising a heavy chain of an antibody selected from 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1. In another embodiment, the heavy chain comprises a CDR3 of an antibody sequence as described herein, and may also comprise the CDR1 and CDR2 regions, each of which are independently selected from a CDR1 and CDR2 region of a heavy chain variable region comprising an amino acid sequence of the V_H region selected from SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 or 102, or encoded by a nucleic acid sequence encoding the V_H region selected from SEQ ID NOS: 1, 5, 9, 25, 29, 33, 37, 45, 97 or 101. In another embodiment, the antibody comprises a light chain as disclosed above and a heavy chain as disclosed above.

[0139] One type of amino acid substitution that may be made is to change one or more cysteines in the antibody, which may be chemically reactive, to another residue, such as, without limitation, alanine or serine. In one embodiment, there is a substitution of a non-canonical cysteine. The substitution can be in a framework region of a variable domain or in the constant domain of an antibody. In another embodiment, the cysteine is in a non-canonical region of the antibody.

[0140] Another type of amino acid substitution that may be made is to remove any potential proteolytic sites in the antibody, particularly those that are in a CDR or framework region of a variable domain or in the constant domain of an antibody. Substitution of cysteine residues and removal of proteolytic sites may decrease the risk of any heterogeneity in the antibody product and thus increase its homogeneity. Another type of amino acid substitution is elimination of asparagine-glycine pairs, which form potential deamidation sites, by altering one or both of the residues.

[0141] In some embodiments, the C-terminal lysine of the heavy chain of the anti-M-CSF antibody of the invention is not present (Lewis D.A., *et al.*, *Anal. Chem.*, 66(5): 585-95 (1994)). In various embodiments of the invention, the heavy

and light chains of the anti-M-CSF antibodies may optionally include a signal sequence.

[0142] In one aspect, the invention relates to inhibiting human anti-M-CSF monoclonal antibodies and the cell lines engineered to produce them. Table 1 lists
5 the sequence identifiers (SEQ ID NOS) of the nucleic acids that encode the variable region of the heavy and light chains and the corresponding predicted amino acid sequences for the monoclonal antibodies: 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3 and 9.7.2. Additional variant antibodies 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-
10 CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4 8.10.3FG1 or 9.14.4G1 could be made by methods known to one skilled in the art.

Table 1

HUMAN ANTI-M-CSE ANTIBODIES				
MAb	SEQUENCE IDENTIFIER (SEQ ID NOS.)			
	Full Length			
	Heavy		Light	
	DNA	Protein	DNA	Protein
252	1	2	3	4
88	5	6	7	8
100	9	10	11	12
3.8.3		14		16
2.7.3		18		20
1.120.1		22		24
9.14.4I	25	26	27	28
9.14.4	37	38	27	28
9.14.4C-Ser		54		56
9.14.4-CG2		74		56
9.14.4-CG4		78		56
9.14.4-Ser		82	27	28
9.14.4-G1	101	102	27	28
8.10.3F	29	30	31	32
8.10.3	29	30	43	44
8.10.3C-Ser		58		60
8.10.3-CG2		62		60
8.10.3-Ser		90	43	44
8.10.3-CG4		94		60
8.10.3FG1	97	98	31	32
9.7.2IF	33	34	35	36
9.7.2	45	46	47	48
9.7.2C-Ser		50		52
9.7.2-CG2		66		52
9.7.2-CG4		70		52
9.7.2-Ser		86	47	48

Class and Subclass of Anti-M-CSF Antibodies

[0143] The class and subclass of anti-M-CSF antibodies may be determined by any method known in the art. In general, the class and subclass of an antibody
5 may be determined using antibodies that are specific for a particular class and subclass of antibody. Such antibodies are commercially available. The class and subclass can be determined by ELISA, or Western Blot as well as other techniques. Alternatively, the class and subclass may be determined by sequencing all or a portion of the constant domains of the heavy and/or light chains of the antibodies,
10 comparing their amino acid sequences to the known amino acid sequences of various class and subclasses of immunoglobulins, and determining the class and subclass of the antibodies.

[0144] In some embodiments, the anti-M-CSF antibody is a monoclonal antibody. The anti-M-CSF antibody can be an IgG, an IgM, an IgE, an IgA, or an
15 IgD molecule. In preferred embodiments, the anti-M-CSF antibody is an IgG and is an IgG1, IgG2, IgG3 or IgG4 subclass. In other preferred embodiments, the antibody is subclass IgG2 or IgG4. In another preferred embodiment, the antibody is subclass IgG1.

Species and Molecular Selectivity

[0145] In another aspect of the invention, the anti-M-CSF antibodies demonstrate both species and molecule selectivity. In some embodiments, the anti-M-CSF antibody binds to human, cynomolgus monkey and mouse M-CSF. Following the teachings of the specification, one may determine the species selectivity for the anti-M-CSF antibody using methods well known in the art. For instance, one may
25 determine the species selectivity using Western blot, FACS, ELISA, RIA, a cell proliferation assay, or a M-CSF receptor binding assay. In a preferred embodiment, one may determine the species selectivity using a cell proliferation assay or ELISA.

[0146] In another embodiment, the anti-M-CSF antibody has a selectivity for M-CSF that is at least 100 times greater than its selectivity for GM-/G-CSF. In some
30 embodiments, the anti-M-CSF antibody does not exhibit any appreciable specific

binding to any other protein other than M-CSF. One can determine the selectivity of the anti-M-CSF antibody for M-CSF using methods well known in the art following the teachings of the specification. For instance one can determine the selectivity using Western blot, FACS, ELISA, or RIA.

5 Identification of M-CSF Epitopes Recognized by Anti- M-CSF Antibodies

[0147] The invention provides a human anti-M-CSF monoclonal antibody that binds to M-CSF and competes with, cross-competes with and/or binds the same epitope and/or binds to M-CSF with the same K_D as (a) an antibody selected from 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1; (b) an antibody that comprises a heavy chain variable region having an amino acid sequence of SEQ ID NO: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 or 102; (c) an antibody that comprises a
10 15 light chain variable region having an amino acid sequence of SEQ ID NO: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 or 60; (d) an antibody that comprises both a heavy chain variable region as defined in (b) and a light chain variable region as defined in (c).

[0148] One can determine whether an antibody binds to the same epitope, competes for binding with, cross competes for binding with or has the same K_D an anti-M-CSF antibody by using methods known in the art. In one embodiment, one allows the anti-M-CSF antibody of the invention to bind to M-CSF under saturating conditions and then measures the ability of the test antibody to bind to M-CSF. If the test antibody is able to bind to M-CSF at the same time as the anti-M-CSF antibody, then the test antibody binds to a different epitope as the anti-M-CSF antibody. However, if the test antibody is not able to bind to M-CSF at the same time, then the test antibody binds to the same epitope, an overlapping epitope, or an epitope that is in close proximity to the epitope bound by the human anti-M-CSF antibody. This experiment can be performed using ELISA, RIA, or
25 30 FACS. In a preferred embodiment, the experiment is performed using BIACORE™.

Binding Affinity of Anti-M-CSF Antibodies to M-CSF

[0149] In some embodiments of the invention, the anti-M-CSF antibodies bind to M-CSF with high affinity. In some embodiments, the anti-M-CSF antibody binds to M-CSF with a K_D of 1×10^{-7} M or less. In other preferred embodiments, the antibody binds to M-CSF with a K_D of 1×10^{-8} M, 1×10^{-9} M, 1×10^{-10} M, 1×10^{-11} M, 1×10^{-12} M or less. In certain embodiments, the K_D is 1 pM to 500 pM. In other embodiments, the K_D is between 500 pM to 1 μ M. In other embodiments, the K_D is between 1 μ M to 100 nM. In other embodiments, the K_D is between 100 nM to 10 nM. In an even more preferred embodiment, the antibody binds to M-CSF with substantially the same K_D as an antibody selected from 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1. In another preferred embodiment, the antibody binds to M-CSF with substantially the same K_D as an antibody that comprises a CDR2 of a light chain, and/or a CDR3 of a heavy chain from an antibody selected from 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1. In still another preferred embodiment, the antibody binds to M-CSF with substantially the same K_D as an antibody that comprises a heavy chain variable region having an amino acid sequence of SEQ ID NO: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 or 102, or that comprises a light chain variable region having an amino acid sequence of SEQ ID NO: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 or 60. In another preferred embodiment, the antibody binds to M-CSF with substantially the same K_D as an antibody that comprises a CDR2, and may optionally comprise a CDR1 and/or CDR3, of a light chain variable region having an amino acid sequence of the V_L region of SEQ ID NO: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 or 60, or that comprises a CDR3, and may optionally comprise a CDR1 and/or CDR2, of a heavy chain variable region having an amino acid sequence of the V_H region of SEQ ID NO: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 or 102.

[0150] In some embodiments, the anti-M-CSF antibody has a low dissociation rate. In some embodiments, the anti-M-CSF antibody has an k_{off} of $2.0 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ or lower. In other preferred embodiments, the antibody binds to M-CSF with a k_{off} of 2.0×10^{-5} or a k_{off} $2.0 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ or lower. In some embodiments, the k_{off} is substantially the same as an antibody described herein, such as an antibody selected from 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1. In some embodiments, the antibody binds to M-CSF with substantially the same k_{off} as an antibody that comprises (a) a CDR3, and may optionally comprise a CDR1 and/or CDR2, of a heavy chain of an antibody selected from 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1; or (b) a CDR2, and may optionally comprise a CDR1 and/or CDR3, of a light chain from an antibody selected from 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1. In some embodiments, the antibody binds to M-CSF with substantially the same k_{off} as an antibody that comprises a heavy chain variable region having an amino acid sequence of SEQ ID NO: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 or 102; or that comprises a light chain variable region having an amino acid sequence of SEQ ID NO: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 or 60; In another preferred embodiment, the antibody binds to M-CSF with substantially the same k_{off} as an antibody that comprises a CDR2, and may optionally comprise a CDR1 and/or CDR3, of a light chain variable region having an amino acid sequence of SEQ ID NO: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 or 60; or a CDR3, and may optionally comprise a CDR1 and/or CDR2, of a heavy chain variable region having an amino acid sequence of SEQ ID NO: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 or 102.

[0151] The binding affinity and dissociation rate of an anti-M-CSF antibody to a M-CSF can be determined by methods known in the art. The binding affinity can be measured by competitive ELISAs, RIAs, surface plasmon resonance (e.g., by using BIACORE™ technology). The dissociation rate can be measured by surface plasmon resonance. Preferably, the binding affinity and dissociation rate is measured by surface plasmon resonance. More preferably, the binding affinity and dissociation rate are measured using BIACORE™ technology. Example VI exemplifies a method for determining affinity constants of anti-M-CSF monoclonal antibodies by BIACORE™ technology.

10 Inhibition of M-CSF Activity by Anti-M-CSF Antibody

Inhibition of M-CSF binding to c-fms

[0152] In another embodiment, the invention provides an anti-M-CSF antibody that inhibits the binding of a M-CSF to *c-fms* receptor and blocks or prevents activation of *c-fms*. In an preferred embodiment, the M-CSF is human. In another preferred embodiment, the anti-M-CSF antibody is a human antibody. The IC₅₀ can be measured by ELISA, RIA, and cell based assays such as a cell proliferation assay, a whole blood monocyte shape change assay, or a receptor binding inhibition assay. In one embodiment, the antibody or portion thereof inhibits cell proliferation with an IC₅₀ of no more than 8.0×10^{-7} M, preferably no more than 3×10^{-7} M, or more preferably no more than 8×10^{-8} M as measured by a cell proliferation assay. In another embodiment, the IC₅₀ as measured by a monocyte shape change assay is no more than 2×10^{-6} M, preferably no more than 9.0×10^{-7} M, or more preferably no more than 9×10^{-8} M. In another preferred embodiment, the IC₅₀ as measured by a receptor binding assay is no more than 2×10^{-6} M, preferably no more than 8.0×10^{-7} M, or more preferably no more than 7.0×10^{-8} M. Examples III, IV, and V exemplify various types of assays.

[0153] In another aspect anti-M-CSF antibodies of the invention inhibit monocyte/macrophage cell proliferation in response to a M-CSF by at least 20%, more preferably 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95% or 100% compared to the proliferation of cell in the absence of antibody.

Methods of Producing Antibodies and Antibody Producing Cell Lines

Immunization

[0154] In some embodiments, human antibodies are produced by immunizing a non-human animal comprising in its genome some or all of human immunoglobulin heavy chain and light chain loci with a M-CSF antigen. In a preferred embodiment, the non-human animal is a XENOMOUSE™ animal (Abgenix Inc., Fremont, CA). Another non-human animal that may be used is a transgenic mouse produced by Medarex (Medarex, Inc., Princeton, NJ).

[0155] XENOMOUSE™ mice are engineered mouse strains that comprise large fragments of human immunoglobulin heavy chain and light chain loci and are deficient in mouse antibody production. See, e.g., Green *et al.*, *Nature Genetics* 7:13-21 (1994) and U.S. Patents 5,916,771, 5,939,598, 5,985,615, 5,998,209, 6,075,181, 6,091,001, 6,114,598, 6,130,364, 6,162,963 and 6,150,584. See also WO 91/10741, WO 94/02602, WO 96/34096, WO 96/33735, WO 98/16654, WO 98/24893, WO 98/50433, WO 99/45031, WO 99/53049, WO 00/09560, and WO 00/037504.

[0156] In another aspect, the invention provides a method for making anti-M-CSF antibodies from non-human, non-mouse animals by immunizing non-human transgenic animals that comprise human immunoglobulin loci with a M-CSF antigen. One can produce such animals using the methods described in the above-cited documents. The methods disclosed in these documents can be modified as described in U.S. Patent 5,994,619. U.S. Patent 5,994,619 describes methods for producing novel cultural inner cell mass (CICM) cells and cell lines, derived from pigs and cows, and transgenic CICM cells into which heterologous DNA has been inserted. CICM transgenic cells can be used to produce cloned transgenic embryos, fetuses, and offspring. The '619 patent also describes the methods of producing the transgenic animals, that are capable of transmitting the heterologous DNA to their progeny. In preferred embodiments, the non-human animals are rats, sheep, pigs, goats, cattle or horses.

[0157] XENOMOUSE™ mice produce an adult-like human repertoire of fully human antibodies and generate antigen-specific human antibodies. In some embodiments, the XENOMOUSE™ mice contain approximately 80% of the

human antibody V gene repertoire through introduction of megabase sized, germline configuration yeast artificial chromosome (YAC) fragments of the human heavy chain loci and kappa light chain loci. In other embodiments, XENOMOUSE™ mice further contain approximately all of the lambda light chain locus. See Mendez *et al.*, *Nature Genetics* 15:146-156 (1997), Green and Jakobovits, *J. Exp. Med.* 188:483-495 (1998), and WO 98/24893, the disclosures of which are hereby incorporated by reference.

[0158] In some embodiments, the non-human animal comprising human immunoglobulin genes are animals that have a human immunoglobulin "minilocus". In the minilocus approach, an exogenous Ig locus is mimicked through the inclusion of individual genes from the Ig locus. Thus, one or more V_H genes, one or more D_H genes, one or more J_H genes, a mu constant domain, and a second constant domain (preferably a gamma constant domain) are formed into a construct for insertion into an animal. This approach is described, *inter alia*, in U.S. Patent Nos. 5,545,807, 5,545,806, 5,569,825, 5,625,126, 5,633,425, 5,661,016, 5,770,429, 5,789,650, 5,814,318, 5,591,669, 5,612,205, 5,721,367, 5,789,215, and 5,643,763, hereby incorporated by reference.

[0159] In another aspect, the invention provides a method for making humanized anti-M-CSF antibodies. In some embodiments, non-human animals are immunized with a M-CSF antigen as described below under conditions that permit antibody production. Antibody-producing cells are isolated from the animals, fused with myelomas to produce hybridomas, and nucleic acids encoding the heavy and light chains of an anti-M-CSF antibody of interest are isolated. These nucleic acids are subsequently engineered using techniques known to those of skill in the art and as described further below to reduce the amount of non-human sequence, i.e., to humanize the antibody to reduce the immune response in humans

[0160] In some embodiments, the M-CSF antigen is isolated and/or purified M-CSF. In a preferred embodiment, the M-CSF antigen is human M-CSF. In some embodiments, the M-CSF antigen is a fragment of M-CSF. In some embodiments, the M-CSF fragment is the extracellular domain of M-CSF. In some embodiments, the M-CSF fragment comprises at least one epitope of M-CSF. In other embodiments, the M-CSF antigen is a cell that expresses or overexpresses M-

CSF or an immunogenic fragment thereof on its surface. In some embodiments, the M-CSF antigen is a M-CSF fusion protein. M-CSF can be purified from natural sources using known techniques. Recombinant M-CSF is commercially available.

- 5 [0161] Immunization of animals can be by any method known in the art. See, e.g., Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Press, 1990. Methods for immunizing non-human animals such as mice, rats, sheep, goats, pigs, cattle and horses are well known in the art. See, e.g., Harlow and Lane, *supra*, and U.S. Patent 5,994,619. In a preferred embodiment,
- 10 the M-CSF antigen is administered with an adjuvant to stimulate the immune response. Exemplary adjuvants include complete or incomplete Freund's adjuvant, RIBI (muramyl dipeptides) or ISCOM (immunostimulating complexes). Such adjuvants may protect the polypeptide from rapid dispersal by sequestering it in a local deposit, or they may contain substances that stimulate the host to secrete
- 15 factors that are chemotactic for macrophages and other components of the immune system. Preferably, if a polypeptide is being administered, the immunization schedule will involve two or more administrations of the polypeptide, spread out over several weeks. Example I exemplifies a method for producing anti-M-CSF monoclonal antibodies in XENOMOUSE™ mice.

20 *Production of Antibodies and Antibody-Producing Cell Lines*

- [0162] After immunization of an animal with a M-CSF antigen, antibodies and/or antibody-producing cells can be obtained from the animal. In some embodiments, anti-M-CSF antibody-containing serum is obtained from the animal by bleeding or sacrificing the animal. The serum may be used as it is obtained from the animal,
- 25 an immunoglobulin fraction may be obtained from the serum, or the anti-M-CSF antibodies may be purified from the serum.

- [0163] In some embodiments, antibody-producing immortalized cell lines are prepared from cells isolated from the immunized animal. After immunization, the animal is sacrificed and lymph node and/or splenic B cells are immortalized.
- 30 Methods of immortalizing cells include, but are not limited to, transfecting them with oncogenes, infecting them with an oncogenic virus, cultivating them under conditions that select for immortalized cells, subjecting them to carcinogenic or

mutating compounds, fusing them with an immortalized cell, e.g., a myeloma cell, and inactivating a tumor suppressor gene. See, e.g., Harlow and Lane, *supra*. If fusion with myeloma cells is used, the myeloma cells preferably do not secrete immunoglobulin polypeptides (a non-secretory cell line). Immortalized cells are
5 screened using M-CSF, a portion thereof, or a cell expressing M-CSF. In a preferred embodiment, the initial screening is performed using an enzyme-linked immunoassay (ELISA) or a radioimmunoassay. An example of ELISA screening is provided in WO 00/37504, incorporated herein by reference.

[0164] Anti-M-CSF antibody-producing cells, e.g., hybridomas, are selected,
10 cloned and further screened for desirable characteristics, including robust growth, high antibody production and desirable antibody characteristics, as discussed further below. Hybridomas can be expanded *in vivo* in syngeneic animals, in animals that lack an immune system, e.g., nude mice, or in cell culture *in vitro*. Methods of selecting, cloning and expanding hybridomas are well known to those
15 of ordinary skill in the art.

[0165] In a preferred embodiment, the immunized animal is a non-human animal that expresses human immunoglobulin genes and the splenic B cells are fused to a myeloma cell line from the same species as the non-human animal. In a more preferred embodiment, the immunized animal is a XENOMOUSE™ animal and
20 the myeloma cell line is a non-secretory mouse myeloma. In an even more preferred embodiment, the myeloma cell line is P3-X63-AG8-653. See, e.g., Example I.

[0166] Thus, in one embodiment, the invention provides methods of producing a cell line that produces a human monoclonal antibody or a fragment thereof directed
25 to M-CSF comprising (a) immunizing a non-human transgenic animal described herein with M-CSF, a portion of M-CSF or a cell or tissue expressing M-CSF; (b) allowing the transgenic animal to mount an immune response to M-CSF; (c) isolating B lymphocytes from a transgenic animal; (d) immortalizing the B lymphocytes; (e) creating individual monoclonal populations of the immortalized
30 B lymphocytes; and (f) screening the immortalized B lymphocytes to identify an antibody directed to M-CSF.

[0167] In another aspect, the invention provides hybridomas that produce an human anti-M-CSF antibody. In a preferred embodiment, the hybridomas are mouse hybridomas, as described above. In other embodiments, the hybridomas are produced in a non-human, non-mouse species such as rats, sheep, pigs, goats, cattle or horses. In another embodiment, the hybridomas are human hybridomas.

[0168] In another preferred embodiment, a transgenic animal is immunized with M-CSF, primary cells, e.g., spleen or peripheral blood cells, are isolated from an immunized transgenic animal and individual cells producing antibodies specific for the desired antigen are identified. Polyadenylated mRNA from each individual cell is isolated and reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) is performed using sense primers that anneal to variable region sequences, e.g., degenerate primers that recognize most or all of the FR1 regions of human heavy and light chain variable region genes and antisense primers that anneal to constant or joining region sequences. cDNAs of the heavy and light chain variable regions are then cloned and expressed in any suitable host cell, e.g., a myeloma cell, as chimeric antibodies with respective immunoglobulin constant regions, such as the heavy chain and κ or λ constant domains. See Babcook, J.S. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:7843-48, 1996, herein incorporated by reference. Anti M-CSF antibodies may then be identified and isolated as described herein.

[0169] In another embodiment, phage display techniques can be used to provide libraries containing a repertoire of antibodies with varying affinities for M-CSF. For production of such repertoires, it is unnecessary to immortalize the B cells from the immunized animal. Rather, the primary B cells can be used directly as a source of DNA. The mixture of cDNAs obtained from B cell, e.g., derived from spleens, is used to prepare an expression library, for example, a phage display library transfected into *E.coli*. The resulting cells are tested for immunoreactivity to M-CSF. Techniques for the identification of high affinity human antibodies from such libraries are described by Griffiths *et al.*, *EMBO J.*, 13:3245-3260 (1994); Nissim *et al.*, *ibid*, pp. 692-698 and by Griffiths *et al.*, *ibid*, 12:725-734.

Ultimately, clones from the library are identified which produce binding affinities of a desired magnitude for the antigen and the DNA encoding the product responsible for such binding is recovered and manipulated for standard

recombinant expression. Phage display libraries may also be constructed using previously manipulated nucleotide sequences and screened in a similar fashion. In general, the cDNAs encoding heavy and light chains are independently supplied or linked to form Fv analogs for production in the phage library.

- 5 [0170] The phage library is then screened for the antibodies with the highest affinities for M-CSF and the genetic material recovered from the appropriate clone. Further rounds of screening can increase affinity of the original antibody isolated.
- [0171] In another aspect, the invention provides hybridomas that produce an human anti-M-CSF antibody. In a preferred embodiment, the hybridomas are
- 10 mouse hybridomas, as described above. In other embodiments, the hybridomas are produced in a non-human, non-mouse species such as rats, sheep, pigs, goats, cattle or horses. In another embodiment, the hybridomas are human hybridomas.

**Nucleic Acids, Vectors, Host Cells, and
Recombinant Methods of Making Antibodies**

15 ***Nucleic Acids***

- [0172] The present invention also encompasses nucleic acid molecules encoding anti-M-CSF antibodies. In some embodiments, different nucleic acid molecules encode a heavy chain and a light chain of an anti-M-CSF immunoglobulin. In other embodiments, the same nucleic acid molecule encodes a heavy chain an a
- 20 light chain of an anti-M-CSF immunoglobulin. In one embodiment, the nucleic acid encodes a M-CSF antibody of the invention.

[0173] In some embodiments, the nucleic acid molecule encoding the variable domain of the light chain comprises a human V_L L5, O12, L2, B3, A27 gene and a J_k1, J_k2, J_k3, or J_k4 gene.

- 25 [0174] In some embodiments, the nucleic acid molecule encoding the light chain, encodes an amino acid sequence comprising 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 10 mutations from the germline amino acid sequence. In some embodiments, the nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence that encodes a V_L amino acid sequence comprising 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 10 non-conservative amino acid substitutions
- 30 and/or 1, 2, or 3 non-conservative substitutions compared to germline sequence. Substitutions may be in the CDR regions, the framework regions, or in the constant domain.

[0175] In some embodiments, the nucleic acid molecule encodes a V_L amino acid sequence comprising one or more variants compared to germline sequence that are identical to the variations found in the V_L of one of the antibodies 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1.

[0176] In some embodiments, the nucleic acid molecule encodes at least three amino acid mutations compared to the germline sequence found in the V_L of one of the antibodies 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4, 8.10.3, or 9.7.2.

[0177] In some embodiments, the nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence that encodes the V_L amino acid sequence of monoclonal antibody 252 (SEQ ID NO: 4), 88 (SEQ ID NO: 8), 100 (SEQ ID NO: 12), 3.8.3 (SEQ ID NO: 16), 2.7.3 (SEQ ID NO: 20), 1.120.1 (SEQ ID NO: 24), 9.14.4I (SEQ ID NO: 28), 8.10.3F (SEQ ID NO: 32), 9.7.2IF (SEQ ID NO: 36), 9.14.4 (SEQ ID NO: 28), 8.10.3 (SEQ ID NO: 44), 9.7.2 (SEQ ID NO: 48), 9.7.2C-Ser (SEQ ID NO: 52), 9.14.4C-Ser (SEQ ID NO: 56), 8.10.3C-Ser (SEQ ID NO: 60), 8.10.3-CG2 (SEQ ID NO: 60), 9.7.2-CG2 (SEQ ID NO: 52), 9.7.2-CG4 (SEQ ID NO: 52), 9.14.4-CG2 (SEQ ID NO: 56), 9.14.4-CG4 (SEQ ID NO: 56), 9.14.4-Ser (SEQ ID NO: 28), 9.7.2-Ser (SEQ ID NO: 48), 8.10.3-Ser (SEQ ID NO: 44), 8.10.3-CG4 (SEQ ID NO: 60) 8.10.3FG1 (SEQ ID NO: 32) or 9.14.4G1 (SEQ ID NO: 28), or a portion thereof. In some embodiments, said portion comprises at least the CDR2 region. In some embodiments, the nucleic acid encodes the amino acid sequence of the light chain CDRs of said antibody. In some embodiments, said portion is a contiguous portion comprising CDR1-CDR3.

[0178] In some embodiments, the nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence that encodes the light chain amino acid sequence of one of SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 or 60. In some preferred embodiments, the nucleic acid molecule comprises the light chain nucleotide sequence of SEQ ID NOS: 3, 7, 11, 27, 31, 35, 43 or 47, or a portion thereof.

[0179] In some embodiments, the nucleic acid molecule encodes a V_L amino acid sequence that is at least 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% or 99% identical to a V_L amino acid sequence shown in Figure 1 or to a V_L amino acid

sequences of any one of antibodies 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1, or an amino acid sequence of
5 any one of SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 or 60. Nucleic acid molecules of the invention include nucleic acids that hybridize under highly stringent conditions, such as those described above, to a nucleic acid sequence encoding the light chain amino acid sequence of SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 or 60, or that has the light chain nucleic acid
10 sequence of SEQ ID NOS: 3, 7, 11, 27, 31, 35, 43 or 47.

[0180] In another embodiment, the nucleic acid encodes a full-length light chain of an antibody selected from 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser,
15 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1, or a light chain comprising the amino acid sequence of SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 or 60 and a constant region of a light chain, or a light chain comprising a mutation. Further, the nucleic acid may comprise the light chain nucleotide sequence of SEQ ID NOS: 3, 7, 11, 27, 31, 35, 43 or 47 and the nucleotide sequence encoding a
20 constant region of a light chain, or a nucleic acid molecule encoding a light chain comprise a mutation.

[0181] In another preferred embodiment, the nucleic acid molecule encodes the variable domain of the heavy chain (V_H) that comprises a human V_H 1-18, 3-33, 3-11, 3-23, 3-48, or 3-7 gene sequence or a sequence derived therefrom. In various
25 embodiments, the nucleic acid molecule comprises a human V_H 1-18 gene, a D_H 4-23 gene and a human J_H 4 gene; a human V_H 3-33 gene, a human D_H 1-26 gene and a human J_H 4 gene; a human V_H 3-11 gene, a human D_H 7-27 gene and a human J_H 4 gene; a human V_H 3-11 gene, a human D_H 7-27 gene and a human J_H 6 gene; a human V_H 3-23 gene, a human D_H 1-26 gene and a human J_H 4 gene; a human V_H
30 3-7 gene, a human D_H 6-13 gene and a human J_H 4 gene; a human V_H 3-11 gene, a human D_H 7-27 gene, and a human J_H 4b gene; a human V_H 3-48 gene, a human

D_H1-26 gene, and a human J_H4b gene; a human V_H3-11 gene, a human D_H6-13 gene, and a human J_H6b gene, or a sequence derived from the human genes.

[0182] In some embodiments, the nucleic acid molecule encodes an amino acid sequence comprising 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 or 18 mutations compared to the germline amino acid sequence of the human V, D or J genes. In some embodiments, said mutations are in the V_H region. In some embodiments, said mutations are in the CDR regions.

[0183] In some embodiments, the nucleic acid molecule encodes one or more amino acid mutations compared to the germline sequence that are identical to amino acid mutations found in the V_H of monoclonal antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1. In some embodiments, the nucleic acid encodes at least three amino acid mutations compared to the germline sequences that are identical to at least three amino acid mutations found in one of the above-listed monoclonal antibodies.

[0184] In some embodiments, the nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence that encodes at least a portion of the V_H amino acid sequence of antibody 252 (SEQ ID NO: 4), 88 (SEQ ID NO: 8), 100 (SEQ ID NO: 12), 3.8.3 (SEQ ID NO: 16), 2.7.3 (SEQ ID NO: 20), 1.120.1 (SEQ ID NO: 24), 9.14.4I (SEQ ID NO: 28), 8.10.3F (SEQ ID NO: 32), 9.7.2IF (SEQ ID NO: 36), 9.14.4 (SEQ ID NO: 28), 8.10.3 (SEQ ID NO: 44), 9.7.2 (SEQ ID NO: 48), 9.7.2C-Ser (SEQ ID NO: 52), 9.14.4C-Ser (SEQ ID NO: 56), 8.10.3C-Ser (SEQ ID NO: 60), 8.10.3-CG2 (SEQ ID NO: 60), 9.7.2-CG2 (SEQ ID NO: 52), 9.7.2-CG4 (SEQ ID NO: 52), 9.14.4-CG2 (SEQ ID NO: 56), 9.14.4-CG4 (SEQ ID NO: 56), 9.14.4-Ser (SEQ ID NO: 28), 9.7.2-Ser (SEQ ID NO: 48), 8.10.3-Ser (SEQ ID NO: 44), 8.10.3-CG4 (SEQ ID NO: 60) 8.10.3FG1 (SEQ ID NO: 32) or 9.14.4G1 (SEQ ID NO: 28), or said sequence having conservative amino acid mutations and/or a total of three or fewer non-conservative amino acid substitutions. In various embodiments the sequence encodes one or more CDR regions, preferably a CDR3 region, all three CDR regions, a contiguous portion including CDR1-CDR3, or the entire V_H region.

[0185] In some embodiments, the nucleic acid molecule comprises a heavy chain nucleotide sequence that encodes the amino acid sequence of one of SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 or 102. In some preferred embodiments, the nucleic acid molecule comprises at least a portion of the heavy chain nucleotide sequence of SEQ ID NO: 1, 5, 9, 25, 29, 33, 37, 45, 97 or 101. In some embodiments, said portion encodes the V_H region, a CDR3 region, all three CDR regions, or a contiguous region including CDR1-CDR3.

[0186] In some embodiments, the nucleic acid molecule encodes a V_H amino acid sequence that is at least 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% or 99% identical to the V_H amino acid sequences shown in Figure 4 or to a V_H amino acid sequence of any one of SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 or 102. Nucleic acid molecules of the invention include nucleic acids that hybridize under highly stringent conditions, such as those described above, to a nucleotide sequence encoding the heavy chain amino acid sequence of SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 or 102 or that has the nucleotide sequence of SEQ ID NOS: 1, 5, 9, 25, 29, 33, 37, 45, 97 or 101.

[0187] In another embodiment, the nucleic acid encodes a full-length heavy chain of an antibody selected from 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1, or a heavy chain having the amino acid sequence of SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 or 102 and a constant region of a heavy chain, or a heavy chain comprising a mutation. Further, the nucleic acid may comprise the heavy chain nucleotide sequence of SEQ ID NOS: 1, 5, 9, 25, 29, 33, 37, 45, 97 or 101 and a nucleotide sequence encoding a constant region of a light chain, or a nucleic acid molecule encoding a heavy chain comprising a mutation.

[0188] A nucleic acid molecule encoding the heavy or entire light chain of an anti-M-CSF antibody or portions thereof can be isolated from any source that

produces such antibody. In various embodiments, the nucleic acid molecules are isolated from a B cell isolated from an animal immunized with M-CSF or from an immortalized cell derived from such a B cell that expresses an anti-M-CSF antibody. Methods of isolating mRNA encoding an antibody are well-known in the art. See, e.g., Sambrook *et al.* The mRNA may be used to produce cDNA for use in the polymerase chain reaction (PCR) or cDNA cloning of antibody genes. In a preferred embodiment, the nucleic acid molecule is isolated from a hybridoma that has as one of its fusion partners a human immunoglobulin-producing cell from a non-human transgenic animal. In an even more preferred embodiment, the human immunoglobulin producing cell is isolated from a XENOMOUSE™ animal. In another embodiment, the human immunoglobulin-producing cell is from a non-human, non-mouse transgenic animal, as described above. In another embodiment, the nucleic acid is isolated from a non-human, non-transgenic animal. The nucleic acid molecules isolated from a non-human, non-transgenic animal may be used, e.g., for humanized antibodies.

[0189] In some embodiments, a nucleic acid encoding a heavy chain of an anti-M-CSF antibody of the invention can comprise a nucleotide sequence encoding a V_H domain of the invention joined in-frame to a nucleotide sequence encoding a heavy chain constant domain from any source. Similarly, a nucleic acid molecule encoding a light chain of an anti-M-CSF antibody of the invention can comprise a nucleotide sequence encoding a V_L domain of the invention joined in-frame to a nucleotide sequence encoding a light chain constant domain from any source.

[0190] In a further aspect of the invention, nucleic acid molecules encoding the variable domain of the heavy (V_H) and light (V_L) chains are "converted" to full-length antibody genes. In one embodiment, nucleic acid molecules encoding the V_H or V_L domains are converted to full-length antibody genes by insertion into an expression vector already encoding heavy chain constant (C_H) or light chain (C_L) constant domains, respectively, such that the V_H segment is operatively linked to the C_H segment(s) within the vector, and the V_L segment is operatively linked to the C_L segment within the vector. In another embodiment, nucleic acid molecules encoding the V_H and/or V_L domains are converted into full-length antibody genes by linking, e.g., ligating, a nucleic acid molecule encoding a V_H and/or V_L domains

to a nucleic acid molecule encoding a C_H and/or C_L domain using standard molecular biological techniques. Nucleic acid sequences of human heavy and light chain immunoglobulin constant domain genes are known in the art. See, e.g., Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed., NIH Publ. No. 91-3242, 1991. Nucleic acid molecules encoding the full-length heavy and/or light chains may then be expressed from a cell into which they have been introduced and the anti-M-CSF antibody isolated.

[0191] The nucleic acid molecules may be used to recombinantly express large quantities of anti-M-CSF antibodies. The nucleic acid molecules also may be used to produce chimeric antibodies, bispecific antibodies, single chain antibodies, immunoadhesins, diabodies, mutated antibodies and antibody derivatives, as described further below. If the nucleic acid molecules are derived from a non-human, non-transgenic animal, the nucleic acid molecules may be used for antibody humanization, also as described below.

[0192] In another embodiment, a nucleic acid molecule of the invention is used as a probe or PCR primer for a specific antibody sequence. For instance, the nucleic acid can be used as a probe in diagnostic methods or as a PCR primer to amplify regions of DNA that could be used, *inter alia*, to isolate additional nucleic acid molecules encoding variable domains of anti-M-CSF antibodies. In some embodiments, the nucleic acid molecules are oligonucleotides. In some embodiments, the oligonucleotides are from highly variable regions of the heavy and light chains of the antibody of interest. In some embodiments, the oligonucleotides encode all or a part of one or more of the CDRs of antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, or 1.120.1, or variants thereof described herein.

25

Vectors

[0193] The invention provides vectors comprising nucleic acid molecules that encode the heavy chain of an anti-M-CSF antibody of the invention or an antigen-binding portion thereof. The invention also provides vectors comprising nucleic acid molecules that encode the light chain of such antibodies or antigen-binding portion thereof. The invention further provides vectors comprising nucleic acid

30

molecules encoding fusion proteins, modified antibodies, antibody fragments, and probes thereof.

- [0194] In some embodiments, the anti-M-CSF antibodies, or antigen-binding portions of the invention are expressed by inserting DNAs encoding partial or full-length light and heavy chains, obtained as described above, into expression vectors such that the genes are operatively linked to necessary expression control sequences such as transcriptional and transnational control sequences. Expression vectors include plasmids, retroviruses, adenoviruses, adeno-associated viruses (AAV), plant viruses such as cauliflower mosaic virus, tobacco mosaic virus, cosmids, YACs, EBV derived episomes, and the like. The antibody gene is ligated into a vector such that transcriptional and transnational control sequences within the vector serve their intended function of regulating the transcription and translation of the antibody gene. The expression vector and expression control sequences are chosen to be compatible with the expression host cell used. The antibody light chain gene and the antibody heavy chain gene can be inserted into separate vectors. In a preferred embodiment, both genes are inserted into the same expression vector. The antibody genes are inserted into the expression vector by standard methods (e.g., ligation of complementary restriction sites on the antibody gene fragment and vector, or blunt end ligation if no restriction sites are present).
- [0195] A convenient vector is one that encodes a functionally complete human C_H or C_L immunoglobulin sequence, with appropriate restriction sites engineered so that any V_H or V_L sequence can easily be inserted and expressed, as described above. In such vectors, splicing usually occurs between the splice donor site in the inserted J region and the splice acceptor site preceding the human C domain, and also at the splice regions that occur within the human C_H exons. Polyadenylation and transcription termination occur at native chromosomal sites downstream of the coding regions. The recombinant expression vector also can encode a signal peptide that facilitates secretion of the antibody chain from a host cell. The antibody chain gene may be cloned into the vector such that the signal peptide is linked in-frame to the amino terminus of the immunoglobulin chain. The signal peptide can be an immunoglobulin signal peptide or a heterologous signal peptide (i.e., a signal peptide from a non-immunoglobulin protein).

[0196] In addition to the antibody chain genes, the recombinant expression vectors of the invention carry regulatory sequences that control the expression of the antibody chain genes in a host cell. It will be appreciated by those skilled in the art that the design of the expression vector, including the selection of regulatory sequences may depend on such factors as the choice of the host cell to be transformed, the level of expression of protein desired, etc. Preferred regulatory sequences for mammalian host cell expression include viral elements that direct high levels of protein expression in mammalian cells, such as promoters and/or enhancers derived from retroviral LTRs, cytomegalovirus (CMV) (such as the CMV promoter/enhancer), Simian Virus 40 (SV40) (such as the SV40 promoter/enhancer), adenovirus, (e.g., the adenovirus major late promoter (AdMLP)), polyoma and strong mammalian promoters such as native immunoglobulin and actin promoters. For further description of viral regulatory elements, and sequences thereof, see e.g., U.S. Patent No. 5,168,062, U.S. Patent No. 4,510,245 and U.S. Patent No. 4,968,615. Methods for expressing antibodies in plants, including a description of promoters and vectors, as well as transformation of plants is known in the art. See, e.g., United States Patents 6,517,529, herein incorporated by reference. Methods of expressing polypeptides in bacterial cells or fungal cells, e.g., yeast cells, are also well known in the art.

[0197] In addition to the antibody chain genes and regulatory sequences, the recombinant expression vectors of the invention may carry additional sequences, such as sequences that regulate replication of the vector in host cells (e.g., origins of replication) and selectable marker genes. The selectable marker gene facilitates selection of host cells into which the vector has been introduced (see e.g., U.S. Patent Nos. 4,399,216, 4,634,665 and 5,179,017). For example, typically the selectable marker gene confers resistance to drugs, such as G418, hygromycin or methotrexate, on a host cell into which the vector has been introduced. Preferred selectable marker genes include the dihydrofolate reductase (DHFR) gene (for use in dhfr-host cells with methotrexate selection/amplification), the neomycin resistance gene (for G418 selection), and the glutamate synthetase gene.

Non-Hybridoma Host Cells and Methods of Recombinantly Producing Protein

[0198] Nucleic acid molecules encoding anti-M-CSF antibodies and vectors comprising these nucleic acid molecules can be used for transfection of a suitable mammalian, plant, bacterial or yeast host cell. Transformation can be by any known method for introducing polynucleotides into a host cell. Methods for
5 introduction of heterologous polynucleotides into mammalian cells are well known in the art and include dextran-mediated transfection, calcium phosphate precipitation, polybrene-mediated transfection, protoplast fusion, electroporation, encapsulation of the polynucleotide(s) in liposomes, and direct microinjection of the DNA into nuclei. In addition, nucleic acid molecules may be introduced into
10 mammalian cells by viral vectors. Methods of transforming cells are well known in the art. See, e.g., U.S. Patent Nos. 4,399,216, 4,912,040, 4,740,461, and 4,959,455 (which patents are hereby incorporated herein by reference). Methods of transforming plant cells are well known in the art, including, e.g.,
15 *Agrobacterium*-mediated transformation, biolistic transformation, direct injection, electroporation and viral transformation. Methods of transforming bacterial and yeast cells are also well known in the art.

[0199] Mammalian cell lines available as hosts for expression are well known in the art and include many immortalized cell lines available from the American Type Culture Collection (ATCC). These include, *inter alia*, Chinese hamster ovary
20 (CHO) cells, NSO, SP2 cells, HeLa cells, baby hamster kidney (BHK) cells, monkey kidney cells (COS), human hepatocellular carcinoma cells (e.g., Hep G2), A549 cells, and a number of other cell lines. Cell lines of particular preference are selected through determining which cell lines have high expression levels. Other cell lines that may be used are insect cell lines, such as Sf9 cells. When
25 recombinant expression vectors encoding antibody genes are introduced into mammalian host cells, the antibodies are produced by culturing the host cells for a period of time sufficient to allow for expression of the antibody in the host cells or, more preferably, secretion of the antibody into the culture medium in which the host cells are grown. Antibodies can be recovered from the culture medium using
30 standard protein purification methods. Plant host cells include, e.g., *Nicotiana*, *Arabidopsis*, duckweed, corn, wheat, potato, etc. Bacterial host cells include

E. coli and *Streptomyces* species. Yeast host cells include *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia pastoris*.

[0200] Further, expression of antibodies of the invention (or other moieties therefrom) from production cell lines can be enhanced using a number of known techniques. For example, the glutamine synthetase gene expression system (the GS system) is a common approach for enhancing expression under certain conditions. The GS system is discussed in whole or part in connection with European Patent Nos. 0 216 846, 0 256 055, and 0 323 997 and European Patent Application No. 89303964.4.

[0201] It is possible that antibodies expressed by different cell lines or in transgenic animals will have different glycosylation from each other. However, all antibodies encoded by the nucleic acid molecules provided herein, or comprising the amino acid sequences provided herein are part of the instant invention, regardless of the glycosylation state or pattern or modification of the antibodies.

15

Transgenic Animals and Plants

[0202] Anti-M-CSF antibodies of the invention also can be produced transgenically through the generation of a mammal or plant that is transgenic for the immunoglobulin heavy and light chain sequences of interest and production of the antibody in a recoverable form therefrom. In connection with the transgenic production in mammals, anti-M-CSF antibodies can be produced in, and recovered from, the milk of goats, cows, or other mammals. See, e.g., U.S. Patent Nos. 5,827,690, 5,756,687, 5,750,172, and 5,741,957. In some embodiments, non-human transgenic animals that comprise human immunoglobulin loci are immunized with M-CSF or an immunogenic portion thereof, as described above. Methods for making antibodies in plants, yeast or fungi/algae are described, e.g., in US patents 6,046,037 and US 5,959,177.

[0203] In some embodiments, non-human transgenic animals or plants are produced by introducing one or more nucleic acid molecules encoding an anti-M-CSF antibody of the invention into the animal or plant by standard transgenic techniques. See Hogan and United States Patent 6,417,429, *supra*. The transgenic cells used for making the transgenic animal can be embryonic stem cells or somatic

30

cells. The transgenic non-human organisms can be chimeric, nonchimeric heterozygotes, and nonchimeric homozygotes. See, e.g., Hogan *et al.*, *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual* 2ed., Cold Spring Harbor Press (1999); Jackson *et al.*, *Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach*, Oxford University Press (2000); and Pinkert, *Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook*, Academic Press (1999). In some embodiments, the transgenic non-human animals have a targeted disruption and replacement by a targeting construct that encodes a heavy chain and/or a light chain of interest. In a preferred embodiment, the transgenic animals comprise and express nucleic acid molecules encoding heavy and light chains that specifically bind to M-CSF, preferably human M-CSF. In some embodiments, the transgenic animals comprise nucleic acid molecules encoding a modified antibody such as a single-chain antibody, a chimeric antibody or a humanized antibody. The anti-M-CSF antibodies may be made in any transgenic animal. In a preferred embodiment, the non-human animals are mice, rats, sheep, pigs, goats, cattle or horses. The non-human transgenic animal expresses said encoded polypeptides in blood, milk, urine, saliva, tears, mucus and other bodily fluids.

Phage Display Libraries

[0204] The invention provides a method for producing an anti-M-CSF antibody or antigen-binding portion thereof comprising the steps of synthesizing a library of human antibodies on phage, screening the library with M-CSF or a portion thereof, isolating phage that bind M-CSF, and obtaining the antibody from the phage. By way of example, one method for preparing the library of antibodies for use in phage display techniques comprises the steps of immunizing a non-human animal comprising human immunoglobulin loci with M-CSF or an antigenic portion thereof to create an immune response, extracting antibody producing cells from the immunized animal; isolating RNA from the extracted cells, reverse transcribing the RNA to produce cDNA, amplifying the cDNA using a primer, and inserting the cDNA into a phage display vector such that antibodies are expressed on the phage. Recombinant anti-M-CSF antibodies of the invention may be obtained in this way.

[0205] Recombinant anti-M-CSF human antibodies of the invention can be isolated by screening a recombinant combinatorial antibody library. Preferably the library is a scFv phage display library, generated using human V_L and V_H cDNAs prepared from mRNA isolated from B cells. Methodologies for preparing and screening such libraries are known in the art. There are commercially available kits for generating phage display libraries (e.g., the Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, catalog no. 27-9400-01; and the Stratagene SurfZAP™ phage display kit, catalog no. 240612). There also are other methods and reagents that can be used in generating and screening antibody display libraries (see, e.g., U.S. Patent No. 5,223,409; PCT Publication Nos. WO 92/18619, WO 91/17271, WO 92/20791, WO 92/15679, WO 93/01288, WO 92/01047, WO 92/09690; Fuchs *et al.*, *Bio/Technology* 9:1370-1372 (1991); Hay *et al.*, *Hum. Antibod. Hybridomas* 3:81-85 (1992); Huse *et al.*, *Science* 246:1275-1281 (1989); McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-554 (1990); Griffiths *et al.*, *EMBO J.* 12:725-734 (1993); Hawkins *et al.*, *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992); Clackson *et al.*, *Nature* 352:624-628 (1991); Gram *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:3576-3580 (1992); Garrad *et al.*, *Bio/Technology* 9:1373-1377 (1991); Hoogenboom *et al.*, *Nuc. Acid Res.* 19:4133-4137 (1991); and Barbas *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:7978-7982 (1991).

[0206] In one embodiment, to isolate a human anti-M-CSF antibodies with the desired characteristics, a human anti-M-CSF antibody as described herein is first used to select human heavy and light chain sequences having similar binding activity toward M-CSF, using the epitope imprinting methods described in PCT Publication No. WO 93/06213. The antibody libraries used in this method are preferably scFv libraries prepared and screened as described in PCT Publication No. WO 92/01047, McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-554 (1990); and Griffiths *et al.*, *EMBO J.* 12:725-734 (1993). The scFv antibody libraries preferably are screened using human M-CSF as the antigen.

[0207] Once initial human V_L and V_H domains are selected, "mix and match" experiments are performed, in which different pairs of the initially selected V_L and V_H segments are screened for M-CSF binding to select preferred V_L/V_H pair combinations. Additionally, to further improve the quality of the antibody, the V_L

and V_H segments of the preferred V_L/V_H pair(s) can be randomly mutated, preferably within the CDR3 region of V_H and/or V_L , in a process analogous to the *in vivo* somatic mutation process responsible for affinity maturation of antibodies during a natural immune response. This *in vitro* affinity maturation can be accomplished by amplifying V_H and V_L domains using PCR primers complementary to the V_H CDR3 or V_L CDR3, respectively, which primers have been "spiked" with a random mixture of the four nucleotide bases at certain positions such that the resultant PCR products encode V_H and V_L segments into which random mutations have been introduced into the V_H and/or V_L CDR3 regions. These randomly mutated V_H and V_L segments can be re-screened for binding to M-CSF.

[0208] Following screening and isolation of an anti-M-CSF antibody of the invention from a recombinant immunoglobulin display library, nucleic acids encoding the selected antibody can be recovered from the display package (e.g., from the phage genome) and subcloned into other expression vectors by standard recombinant DNA techniques. If desired, the nucleic acid can further be manipulated to create other antibody forms of the invention, as described below. To express a recombinant human antibody isolated by screening of a combinatorial library, the DNA encoding the antibody is cloned into a recombinant expression vector and introduced into a mammalian host cells, as described above.

Class switching

[0209] Another aspect of the invention provides a method for converting the class or subclass of an anti-M-CSF antibody to another class or subclass. In some embodiments, a nucleic acid molecule encoding a V_L or V_H that does not include any nucleic acid sequences encoding C_L or C_H is isolated using methods well-known in the art. The nucleic acid molecule then is operatively linked to a nucleic acid sequence encoding a C_L or C_H from a desired immunoglobulin class or subclass. This can be achieved using a vector or nucleic acid molecule that comprises a C_L or C_H chain, as described above. For example, an anti-M-CSF antibody that was originally IgM can be class switched to an IgG. Further, the class switching may be used to convert one IgG subclass to another, e.g., from

IgG1 to IgG2. Another method for producing an antibody of the invention comprising a desired isotype comprises the steps of isolating a nucleic acid encoding a heavy chain of an anti-M-CSF antibody and a nucleic acid encoding a light chain of an anti-M-CSF antibody, isolating the sequence encoding the V_H region, ligating the V_H sequence to a sequence encoding a heavy chain constant domain of the desired isotype, expressing the light chain gene and the heavy chain construct in a cell, and collecting the anti-M-CSF antibody with the desired isotype.

[0210] In some embodiments, anti-M-CSF antibodies of the invention have the serine at position 228 (according to the EU-numbering convention) of the heavy chain changed to a proline. Accordingly, the CPSC sub-sequence in the F_C region of IgG4 becomes CPPC, which is the sub-sequence in IgG1. (Aalberse, R.C. and Schuurman, J., *Immunology*, 105:9-19 (2002)). For example, the serine at residue 243 SEQ ID NO: 46 (which corresponds to residue 228 in the EU-numbering convention) would become proline. Similarly, the serine at residue 242 of SEQ ID NO: 38 (which corresponds to residue 228 in the EU-numbering convention) would become proline. In some embodiments, the framework region of the IgG4 antibody can be back-mutated to the germline framework sequence. Some embodiments comprise both the back-mutates framework region and the serine to proline change in the F_C region. See, e.g., SEQ ID NO: 54 (antibody 9.14.4C-Ser) and SEQ ID NO: 58 (antibody 8.10.3C-Ser) in Table 1.

Deimmunized Antibodies

[0211] Another way of producing antibodies with reduced immunogenicity is the deimmunization of antibodies. In another aspect of the invention, the antibody may be deimmunized using the techniques described in, e.g., PCT Publication Nos. WO98/52976 and WO00/34317 (which incorporated herein by reference in their entirety).

Mutated Antibodies

[0212] In another embodiment, the nucleic acid molecules, vectors and host cells may be used to make mutated anti-M-CSF antibodies. The antibodies may be

mutated in the variable domains of the heavy and/or light chains, e.g., to alter a binding property of the antibody. For example, a mutation may be made in one or more of the CDR regions to increase or decrease the K_D of the antibody for M-CSF, to increase or decrease k_{on} , or to alter the binding specificity of the antibody. Techniques in site-directed mutagenesis are well-known in the art. See, 5 e.g., Sambrook *et al.* and Ausubel *et al.*, *supra*. In a preferred embodiment, mutations are made at an amino acid residue that is known to be changed compared to germline in a variable domain of an anti-M-CSF antibody. In another embodiment, one or more mutations are made at an amino acid residue that is 10 known to be changed compared to the germline in a CDR region or framework region of a variable domain, or in a constant domain of a monoclonal antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 15 9.14.4G1. In another embodiment, one or more mutations are made at an amino acid residue that is known to be changed compared to the germline in a CDR region or framework region of a variable domain of a heavy chain amino acid sequence selected from SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 or 102, or whose heavy chain 20 nucleotide sequence is presented in SEQ ID NOS: 1, 5, 9, 25, 29, 33, 37, 45, 97 or 101. In another embodiment, one or more mutations are made at an amino acid residue that is known to be changed compared to the germline in a CDR region or framework region of a variable domain of a light chain amino acid sequence selected from SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 or 60, or 25 whose light chain nucleotide sequence is presented in SEQ ID NOS: 3, 7, 11, 27, 31, 35, 43 or 47.

[0213] In one embodiment, the framework region is mutated so that the resulting framework region(s) have the amino acid sequence of the corresponding germline gene. A mutation may be made in a framework region or constant domain to 30 increase the half-life of the anti-M-CSF antibody. See, e.g., PCT Publication No. WO 00/09560, herein incorporated by reference. A mutation in a framework region or constant domain also can be made to alter the immunogenicity of the

antibody, to provide a site for covalent or non-covalent binding to another molecule, or to alter such properties as complement fixation, FcR binding and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC). According to the invention, a single antibody may have mutations in any one or more of the CDRs or framework regions of the variable domain or in the constant domain.

5 [0214] In some embodiments, there are from 1 to 8 including any number in between, amino acid mutations in either the V_H or V_L domains of the mutated anti-M-CSF antibody compared to the anti-M-CSF antibody prior to mutation. In any of the above, the mutations may occur in one or more CDR regions. Further, any
10 of the mutations can be conservative amino acid substitutions. In some embodiments, there are no more than 5, 4, 3, 2, or 1 amino acid changes in the constant domains.

Modified Antibodies

15 [0215] In another embodiment, a fusion antibody or immunoadhesin may be made that comprises all or a portion of an anti-M-CSF antibody of the invention linked to another polypeptide. In a preferred embodiment, only the variable domains of the anti-M-CSF antibody are linked to the polypeptide. In another preferred embodiment, the V_H domain of an anti-M-CSF antibody is linked to a
20 first polypeptide, while the V_L domain of an anti-M-CSF antibody is linked to a second polypeptide that associates with the first polypeptide in a manner such that the V_H and V_L domains can interact with one another to form an antibody binding site. In another preferred embodiment, the V_H domain is separated from the V_L domain by a linker such that the V_H and V_L domains can interact with one another
25 (see below under Single Chain Antibodies). The V_H -linker- V_L antibody is then linked to the polypeptide of interest. The fusion antibody is useful for directing a polypeptide to a M-CSF-expressing cell or tissue. The polypeptide may be a therapeutic agent, such as a toxin, growth factor or other regulatory protein, or may be a diagnostic agent, such as an enzyme that may be easily visualized, such as
30 horseradish peroxidase. In addition, fusion antibodies can be created in which two (or more) single-chain antibodies are linked to one another. This is useful if one

wants to create a divalent or polyvalent antibody on a single polypeptide chain, or if one wants to create a bispecific antibody.

[0216] To create a single chain antibody, (scFv) the V_H - and V_L -encoding DNA fragments are operatively linked to another fragment encoding a flexible linker, e.g., encoding the amino acid sequence $(Gly_4-Ser)_3$, such that the V_H and V_L sequences can be expressed as a contiguous single-chain protein, with the V_L and V_H domains joined by the flexible linker. See, e.g., Bird *et al.*, *Science* 242:423-426 (1988); Huston *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883 (1988); McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-554 (1990). The single chain antibody may be monovalent, if only a single V_H and V_L are used, bivalent, if two V_H and V_L are used, or polyvalent, if more than two V_H and V_L are used. Bispecific or polyvalent antibodies may be generated that bind specifically to M-CSF and to another molecule.

[0217] In other embodiments, other modified antibodies may be prepared using anti-M-CSF antibody-encoding nucleic acid molecules. For instance, "Kappa bodies" (Ill *et al.*, *Protein Eng.* 10: 949-57 (1997)), "Minibodies" (Martin *et al.*, *EMBO J.* 13: 5303-9 (1994)), "Diabodies" (Holliger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993)), or "Janusins" (Traunecker *et al.*, *EMBO J.* 10:3655-3659 (1991) and Traunecker *et al.*, *Int. J. Cancer* (Suppl.) 7:51-52 (1992)) may be prepared using standard molecular biological techniques following the teachings of the specification.

[0218] Bispecific antibodies or antigen-binding fragments can be produced by a variety of methods including fusion of hybridomas or linking of Fab' fragments. See, e.g., Songsivilai & Lachmann, *Clin. Exp. Immunol.* 79: 315-321 (1990), Kostelny *et al.*, *J. Immunol.* 148:1547-1553 (1992). In addition, bispecific antibodies may be formed as "diabodies" or "Janusins." In some embodiments, the bispecific antibody binds to two different epitopes of M-CSF. In some embodiments, the bispecific antibody has a first heavy chain and a first light chain from monoclonal antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, or 9.7.2 and an additional antibody heavy chain and light chain. In some embodiments, the additional light chain and heavy chain also are

from one of the above-identified monoclonal antibodies, but are different from the first heavy and light chains.

[0219] In some embodiments, the modified antibodies described above are prepared using one or more of the variable domains or CDR regions from a human anti-M-CSF monoclonal antibody provided herein, from an amino acid sequence of said monoclonal antibody, or from a heavy chain or light chain encoded by a nucleic acid sequence encoding said monoclonal antibody.

Derivatized and Labeled Antibodies

[0220] An anti-M-CSF antibody or antigen-binding portion of the invention can be derivatized or linked to another molecule (e.g., another peptide or protein). In general, the antibodies or portion thereof is derivatized such that the M-CSF binding is not affected adversely by the derivatization or labeling. Accordingly, the antibodies and antibody portions of the invention are intended to include both intact and modified forms of the human anti-M-CSF antibodies described herein. For example, an antibody or antibody portion of the invention can be functionally linked (by chemical coupling, genetic fusion, noncovalent association or otherwise) to one or more other molecular entities, such as another antibody (e.g., a bispecific antibody or a diabody), a detection agent, a cytotoxic agent, a pharmaceutical agent, and/or a protein or peptide that can mediate association of the antibody or antibody portion with another molecule (such as a streptavidin core region or a polyhistidine tag).

[0221] One type of derivatized antibody is produced by crosslinking two or more antibodies (of the same type or of different types, e.g., to create bispecific antibodies). Suitable crosslinkers include those that are heterobifunctional, having two distinctly reactive groups separated by an appropriate spacer (e.g., m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimide ester) or homobifunctional (e.g., disuccinimidyl suberate). Such linkers are available from Pierce Chemical Company, Rockford, Ill.

[0222] Another type of derivatized antibody is a labeled antibody. Useful detection agents with which an antibody or antigen-binding portion of the invention may be derivatized include fluorescent compounds, including

fluorescein, fluorescein isothiocyanate, rhodamine, 5-dimethylamine-1-naphthalenesulfonyl chloride, phycoerythrin, lanthanide phosphors and the like. An antibody can also be labeled with enzymes that are useful for detection, such as horseradish peroxidase, β -galactosidase, luciferase, alkaline phosphatase, glucose oxidase and the like. When an antibody is labeled with a detectable enzyme, it is detected by adding additional reagents that the enzyme uses to produce a reaction product that can be discerned. For example, when the agent horseradish peroxidase is present, the addition of hydrogen peroxide and diaminobenzidine leads to a colored reaction product, which is detectable. An antibody can also be labeled with biotin, and detected through indirect measurement of avidin or streptavidin binding. An antibody can also be labeled with a predetermined polypeptide epitope recognized by a secondary reporter (e.g., leucine zipper pair sequences, binding sites for secondary antibodies, metal binding domains, epitope tags). In some embodiments, labels are attached by spacer arms of various lengths to reduce potential steric hindrance.

[0223] An anti-M-CSF antibody can also be labeled with a radiolabeled amino acid. The radiolabeled anti-M-CSF antibody can be used for both diagnostic and therapeutic purposes. For instance, the radiolabeled anti-M-CSF antibody can be used to detect M-CSF-expressing tumors by x-ray or other diagnostic techniques. Further, the radiolabeled anti-M-CSF antibody can be used therapeutically as a toxin for cancerous cells or tumors. Examples of labels for polypeptides include, but are not limited to, the following radioisotopes or radionuclides – ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , and ^{131}I .

[0224] An anti-M-CSF antibody can also be derivatized with a chemical group such as polyethylene glycol (PEG), a methyl or ethyl group, or a carbohydrate group. These groups are useful to improve the biological characteristics of the antibody, e.g., to increase serum half-life or to increase tissue binding.

Pharmaceutical Compositions and Kits

[0225] The invention also relates to compositions comprising a human anti-M-CSF antagonist antibody for the treatment of subjects in need of treatment for rheumatoid arthritis, osteoporosis, or atherosclerosis. In some embodiments, the subject of treatment is a human. In other embodiments, the subject is a veterinary

subject. Hyperproliferative disorders where monocytes play a role that may be treated by an antagonist anti-M-CSF antibody of the invention can involve any tissue or organ and include but are not limited to brain, lung, squamous cell, bladder, gastric, pancreatic, breast, head, neck, liver, renal, ovarian, prostate, colorectal, esophageal, gynecological, nasopharynx, or thyroid cancers, melanomas, lymphomas, leukemias or multiple myelomas. In particular, human antagonist anti-M-CSF antibodies of the invention are useful to treat or prevent carcinomas of the breast, prostate, colon and lung.

[0226] This invention also encompasses compositions for the treatment of a condition selected from the group consisting of arthritis, psoriatic arthritis, Reiter's syndrome, gout, traumatic arthritis, rubella arthritis and acute synovitis, rheumatoid arthritis, rheumatoid spondylitis, ankylosing spondylitis, osteoarthritis, gouty arthritis and other arthritic conditions, sepsis, septic shock, endotoxic shock, gram negative sepsis, toxic shock syndrome, Alzheimer's disease, stroke, neurotrauma, asthma, adult respiratory distress syndrome, cerebral malaria, chronic pulmonary inflammatory disease, silicosis, pulmonary sarcoidosis, bone resorption disease, osteoporosis, restenosis, cardiac and renal reperfusion injury, thrombosis, glomerulonephritis, diabetes, graft vs. host reaction, allograft rejection, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, ulcerative colitis, multiple sclerosis, muscle degeneration, eczema, contact dermatitis, psoriasis, sunburn, or conjunctivitis shock in a mammal, including a human, comprising an amount of a human anti-M-CSF monoclonal antibody of the invention effective in such treatment and a pharmaceutically acceptable carrier.

[0227] Treatment may involve administration of one or more antagonist anti-M-CSF monoclonal antibodies of the invention, or antigen-binding fragments thereof, alone or with a pharmaceutically acceptable carrier. As used herein, "pharmaceutically acceptable carrier" means any and all solvents, dispersion media, coatings, antibacterial and antifungal agents, isotonic and absorption delaying agents, and the like that are physiologically compatible. Some examples of pharmaceutically acceptable carriers are water, saline, phosphate buffered saline, dextrose, glycerol, ethanol and the like, as well as combinations thereof. In many cases, it will be preferable to include isotonic agents, for example, sugars,

polyalcohols such as mannitol, sorbitol, or sodium chloride in the composition. Additional examples of pharmaceutically acceptable substances are wetting agents or minor amounts of auxiliary substances such as wetting or emulsifying agents, preservatives or buffers, which enhance the shelf life or effectiveness of the antibody.

5 [0228] Anti-M-CSF antibodies of the invention and compositions comprising them, can be administered in combination with one or more other therapeutic, diagnostic or prophylactic agents. Additional therapeutic agents include other anti-neoplastic, anti-tumor, anti-angiogenic or chemotherapeutic agents. Such additional agents may be included in the same composition or administered separately. In some embodiments, one or more inhibitory anti-M-CSF antibodies of the invention can be used as a vaccine or as adjuvants to a vaccine.

10 [0229] The compositions of this invention may be in a variety of forms, for example, liquid, semi-solid and solid dosage forms, such as liquid solutions (e.g., injectable and infusible solutions), dispersions or suspensions, tablets, pills, powders, liposomes and suppositories. The preferred form depends on the intended mode of administration and therapeutic application. Typical preferred compositions are in the form of injectable or infusible solutions, such as compositions similar to those used for passive immunization of humans. The preferred mode of administration is parenteral (e.g., intravenous, subcutaneous, intraperitoneal, intramuscular). In a preferred embodiment, the antibody is administered by intravenous infusion or injection. In another preferred embodiment, the antibody is administered by intramuscular or subcutaneous injection. In another embodiment, the invention includes a method of treating a subject in need thereof with an antibody or an antigen-binding portion thereof that specifically binds to M-CSF comprising the steps of: (a) administering an effective amount of an isolated nucleic acid molecule encoding the heavy chain or the antigen-binding portion thereof, an isolated nucleic acid molecule encoding the light chain or the antigen-binding portion thereof, or both the nucleic acid molecules encoding the light chain and the heavy chain or antigen-binding portions thereof; and (b) expressing the nucleic acid molecule.

15
20
25
30

4 0 1 7 0 3 4 0 0 0 0 0 4 5 0 0 0

[0230] Therapeutic compositions typically must be sterile and stable under the conditions of manufacture and storage. The composition can be formulated as a solution, microemulsion, dispersion, liposome, or other ordered structure suitable to high drug concentration. Sterile injectable solutions can be prepared by
5 incorporating the anti-M-CSF antibody in the required amount in an appropriate solvent with one or a combination of ingredients enumerated above, as required, followed by filtered sterilization. Generally, dispersions are prepared by incorporating the active compound into a sterile vehicle that contains a basic dispersion medium and the required other ingredients from those enumerated
10 above. In the case of sterile powders for the preparation of sterile injectable solutions, the preferred methods of preparation are vacuum drying and freeze-drying that yields a powder of the active ingredient plus any additional desired ingredient from a previously sterile-filtered solution thereof. The proper fluidity of a solution can be maintained, for example, by the use of a coating such
15 as lecithin, by the maintenance of the required particle size in the case of dispersion and by the use of surfactants. Prolonged absorption of injectable compositions can be brought about by including in the composition an agent that delays absorption, for example, monostearate salts and gelatin.

[0231] The antibodies of the present invention can be administered by a variety
20 of methods known in the art, although for many therapeutic applications, the preferred route/mode of administration is subcutaneous, intramuscular, or intravenous infusion. As will be appreciated by the skilled artisan, the route and/or mode of administration will vary depending upon the desired results.

[0232] In certain embodiments, the antibody compositions active compound may
25 be prepared with a carrier that will protect the antibody against rapid release, such as a controlled release formulation, including implants, transdermal patches, and microencapsulated delivery systems. Biodegradable, biocompatible polymers can be used, such as ethylene vinyl acetate, polyanhydrides, polyglycolic acid, collagen, polyorthoesters, and polylactic acid. Many methods for the preparation
30 of such formulations are patented or generally known to those skilled in the art. See, e.g., *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems* (J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978).

[0233] In certain embodiments, an anti-M-CSF antibody of the invention can be orally administered, for example, with an inert diluent or an assimilable edible carrier. The compound (and other ingredients, if desired) can also be enclosed in a hard or soft shell gelatin capsule, compressed into tablets, or incorporated directly into the subject's diet. For oral therapeutic administration, the anti-M-CSF antibodies can be incorporated with excipients and used in the form of ingestible tablets, buccal tablets, troches, capsules, elixirs, suspensions, syrups, wafers, and the like. To administer a compound of the invention by other than parenteral administration, it may be necessary to coat the compound with, or co-administer the compound with, a material to prevent its inactivation.

[0234] Additional active compounds also can be incorporated into the compositions. In certain embodiments, an anti-M-CSF antibody of the invention is co-formulated with and/or co-administered with one or more additional therapeutic agents. These agents include antibodies that bind other targets, antineoplastic agents, antitumor agents, chemotherapeutic agents, peptide analogues that inhibit M-CSF, soluble *c-fms* that can bind M-CSF, one or more chemical agents that inhibit M-CSF, anti-inflammatory agents, anti-coagulants, agents that lower blood pressure (i.e., angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors). Such combination therapies may require lower dosages of the anti-M-CSF antibody as well as the co-administered agents, thus avoiding possible toxicities or complications associated with the various monotherapies.

[0235] Inhibitory anti-M-CSF antibodies of the invention and compositions comprising them also may be administered in combination with other therapeutic regimens, in particular in combination with radiation treatment for cancer. The compounds of the present invention may also be used in combination with anticancer agents such as endostatin and angiostatin or cytotoxic drugs such as adriamycin, daunomycin, cis-platinum, etoposide, taxol, taxotere and alkaloids, such as vincristine, farnesyl transferase inhibitors, VEGF inhibitors, and antimetabolites such as methotrexate.

[0236] The compounds of the invention may also be used in combination with antiviral agents such as Viracept, AZT, aciclovir and famciclovir, and antiseptic compounds such as Valant.

25
48

1 0 1 1 0 3 2 0 0 4 0 0 2 3 3 9 0

[0237] The compositions of the invention may include a "therapeutically effective amount" or a "prophylactically effective amount" of an antibody or antigen-binding portion of the invention. A "therapeutically effective amount" refers to an amount effective, at dosages and for periods of time necessary, to achieve the desired therapeutic result. A therapeutically effective amount of the antibody or antibody portion may vary according to factors such as the disease state, age, sex, and weight of the individual, and the ability of the antibody or antibody portion to elicit a desired response in the individual. A therapeutically effective amount is also one in which any toxic or detrimental effects of the antibody or antibody portion are outweighed by the therapeutically beneficial effects. A "prophylactically effective amount" refers to an amount effective, at dosages and for periods of time necessary, to achieve the desired prophylactic result. Typically, since a prophylactic dose is used in subjects prior to or at an earlier stage of disease, the prophylactically effective amount will be less than the therapeutically effective amount.

[0238] Dosage regimens can be adjusted to provide the optimum desired response (e.g., a therapeutic or prophylactic response). For example, a single bolus can be administered, several divided doses can be administered over time or the dose can be proportionally reduced or increased as indicated by the exigencies of the therapeutic situation. It is especially advantageous to formulate parenteral compositions in dosage unit form for ease of administration and uniformity of dosage. Dosage unit form as used herein refers to physically discrete units suited as unitary dosages for the mammalian subjects to be treated; each unit containing a predetermined quantity of active compound calculated to produce the desired therapeutic effect in association with the required pharmaceutical carrier. The specification for the dosage unit forms of the invention are dictated by and directly dependent on (a) the unique characteristics of the anti-M-CSF antibody or portion and the particular therapeutic or prophylactic effect to be achieved, and (b) the limitations inherent in the art of compounding such an antibody for the treatment of sensitivity in individuals.

[0239] An exemplary, non-limiting range for a therapeutically or prophylactically effective amount of an antibody or antibody portion of the

invention is 0.025 to 50 mg/kg, more preferably 0.1 to 50 mg/kg, more preferably 0.1-25, 0.1 to 10 or 0.1 to 3 mg/kg. It is to be noted that dosage values may vary with the type and severity of the condition to be alleviated. It is to be further understood that for any particular subject, specific dosage regimens should be
5 adjusted over time according to the individual need and the professional judgment of the person administering or supervising the administration of the compositions, and that dosage ranges set forth herein are exemplary only and are not intended to limit the scope or practice of the claimed composition.

[0240] Another aspect of the present invention provides kits comprising an anti-
10 M-CSF antibody or antigen-binding portion of the invention or a composition comprising such an antibody or portion. A kit may include, in addition to the antibody or composition, diagnostic or therapeutic agents. A kit also can include instructions for use in a diagnostic or therapeutic method. In a preferred embodiment, the kit includes the antibody or a composition comprising it and a
15 diagnostic agent that can be used in a method described below. In another preferred embodiment, the kit includes the antibody or a composition comprising it and one or more therapeutic agents that can be used in a method described below. One embodiment of the invention is a kit comprising a container, instructions on the administration of an anti-M-CSF antibody to a human suffering from an
20 inflammatory disease, or instructions for measuring the number of CD14+CD16+ monocytes in a biological sample and an anti-M-CSF antibody.

[0241] This invention also relates to compositions for inhibiting abnormal cell growth in a mammal comprising an amount of an antibody of the invention in combination with an amount of a chemotherapeutic agent, wherein the amounts of
25 the compound, salt, solvate, or prodrug, and of the chemotherapeutic agent are together effective in inhibiting abnormal cell growth. Many chemotherapeutic agents are known in the art. In some embodiments, the chemotherapeutic agent is selected from the group consisting of mitotic inhibitors, alkylating agents, anti-metabolites, intercalating antibiotics, growth factor inhibitors, cell cycle inhibitors,
30 enzymes, topoisomerase inhibitors, biological response modifiers, anti-hormones, c.g. anti-androgens, and anti-angiogenesis agents.

[0242] Anti-angiogenic agents, such as MMP-2 (matrix-metalloproteinase 2) inhibitors, MMP-9 (matrix-metalloproteinase 9) inhibitors, and COX-II (cyclooxygenase II) inhibitors, can be used in conjunction with an anti-M-CSF antibody of the invention. Examples of useful COX-II inhibitors include
 5 CELEBREXTM (celecoxib), valdecoxib, and rofecoxib. Examples of useful matrix metalloproteinase inhibitors are described in WO 96/33172 (published October 24, 1996), WO 96/27583 (published March 7, 1996), European Patent Application No. 97304971.1 (filed July 8, 1997), European Patent Application No. 99308617.2 (filed October 29, 1999), WO 98/07697 (published February 26, 1998), WO
 10 98/03516 (published January 29, 1998), WO 98/34918 (published August 13, 1998), WO 98/34915 (published August 13, 1998), WO 98/33768 (published August 6, 1998), WO 98/30566 (published July 16, 1998), European Patent Publication 606,046 (published July 13, 1994), European Patent Publication 931,788 (published July 28, 1999), WO 90/05719 (published May 31, 1990), WO
 15 99/52910 (published October 21, 1999), WO 99/52889 (published October 21, 1999), WO 99/29667 (published June 17, 1999), PCT International Application No. PCT/IB98/01113 (filed July 21, 1998), European Patent Application No. 99302232.1 (filed March 25, 1999), Great Britain patent application number 9912961.1 (filed June 3, 1999), U.S. Provisional Application No. 60/148,464 (filed
 20 August 12, 1999), U.S. Patent 5,863,949 (issued January 26, 1999), U.S. Patent 5,861,510 (issued January 19, 1999), and European Patent Publication 780,386 (published June 25, 1997), all of which are incorporated herein in their entireties by reference. Preferred MMP inhibitors are those that do not demonstrate arthralgia. More preferred, are those that selectively inhibit MMP-2 and/or MMP-
 25 9 relative to the other matrix-metalloproteinases (i.e. MMP-1, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP-7, MMP-8, MMP-10, MMP-11, MMP-12, and MMP-13). Some specific examples of MMP inhibitors useful in the present invention are AG-3340, RO 32-3555, RS 13-0830, and the compounds recited in the following list:
 30 3-[[4-(4-fluoro-phenoxy)-benzenesulfonyl]-(1-hydroxycarbamoyl-cyclopentyl)-amino]-propionic acid; 3-exo-3-[4-(4-fluoro-phenoxy)-benzenesulfonylamino]-8-oxa-bicyclo[3.2.1]octane-3-carboxylic acid hydroxyamide; (2R, 3R) 1-[4-(2-chloro-4-fluoro-benzyloxy)-benzenesulfonyl]-3-hydroxy-3-methyl-piperidine-2-

carboxylic acid hydroxyamide; 4-[4-(4-fluoro-phenoxy)-benzenesulfonylamino]-tetrahydro-pyran-4-carboxylic acid hydroxyamide; 3-[[4-(4-fluoro-phenoxy)-benzenesulfonyl]-(1-hydroxycarbamoyl-cyclobutyl)-amino]-propionic acid; 4-[4-(4-chloro-phenoxy)-benzenesulfonylamino]-tetrahydro-pyran-4-carboxylic acid hydroxyamide; (R) 3-[4-(4-chloro-phenoxy)-benzenesulfonylamino]-tetrahydro-pyran-3-carboxylic acid hydroxyamide; (2R, 3R) 1-[4-(4-fluoro-2-methylbenzyloxy)-benzenesulfonyl]-3-hydroxy-3-methyl-piperidine-2-carboxylic acid hydroxyamide; 3-[[4-(4-fluoro-phenoxy)-benzenesulfonyl]-(1-hydroxycarbamoyl-1-methyl-ethyl)-amino]-propionic acid; 3-[[4-(4-fluoro-phenoxy)-benzenesulfonyl]-(4-hydroxycarbamoyl-tetrahydro-pyran-4-yl)-amino]-propionic acid; 3-exo-3-[4-(4-chloro-phenoxy)-benzenesulfonylamino]-8-oxa-bicyclo[3.2.1]octane-3-carboxylic acid hydroxyamide; 3-endo-3-[4-(4-fluoro-phenoxy)-benzenesulfonylamino]-8-oxa-bicyclo[3.2.1]octane-3-carboxylic acid hydroxyamide; and (R) 3-[4-(4-fluoro-phenoxy)-benzenesulfonylamino]-tetrahydro-furan-3-carboxylic acid hydroxyamide; and pharmaceutically acceptable salts and solvates of said compounds.

[0243] A compound comprising a human anti-M-CSF monoclonal antibody of the invention can also be used with signal transduction inhibitors, such as agents that can inhibit EGF-R (epidermal growth factor receptor) responses, such as EGF-R antibodies, EGF antibodies, and molecules that are EGF-R inhibitors; VEGF (vascular endothelial growth factor) inhibitors, such as VEGF receptors and molecules that can inhibit VEGF; and erbB2 receptor inhibitors, such as organic molecules or antibodies that bind to the erbB2 receptor, for example, HERCEPTINTM (Genentech, Inc.). EGF-R inhibitors are described in, for example in WO 95/19970 (published July 27, 1995), WO 98/14451 (published April 9, 1998), WO 98/02434 (published January 22, 1998), and United States Patent 5,747,498 (issued May 5, 1998), and such substances can be used in the present invention as described herein. EGFR-inhibiting agents include, but are not limited to, the monoclonal antibodies C225 and anti-EGFR 22Mab (ImClone Systems Incorporated), ABX-EGF (Abgenix/Cell Genesys), EMD-7200 (Merck KgaA), EMD-5590 (Merck KgaA), MDX-447/H-477 (Medarex Inc. and Merck KgaA), and the compounds ZD-1834, ZD-1838 and ZD-1839 (AstraZeneca), PKI-166

(Novartis), PKI-166/CGP-75166 (Novartis), PTK 787 (Novartis), CP 701 (Cephalon), leflunomide (Pharmacia/Sugen), CI-1033 (Warner Lambert Parke Davis), CI-1033/PD 183,805 (Warner Lambert Parke Davis), CL-387,785 (Wyeth-Ayerst), BBR-1611 (Boehringer Mannheim GmbH/Roche), Naamidine A (Bristol Myers Squibb), RC-3940-II (Pharmacia), BIBX-1382 (Boehringer Ingelheim), OLX-103 (Merck & Co.), VRCTC-310 (Ventech Research), EGF fusion toxin (Seragen Inc.), DAB-389 (Seragen/Lilgand), ZM-252808 (Imperial Cancer Research Fund), RG-50864 (INSERM), LFM-A12 (Parker Hughes Cancer Center), WHI-P97 (Parker Hughes Cancer Center), GW-282974 (Glaxo), KT-8391 (Kyowa Hakko) and EGF-R Vaccine (York Medical/Centro de Immunologia Molecular (CIM)). These and other EGF-R-inhibiting agents can be used in the present invention.

[0244] VEGF inhibitors, for example SU-5416 and SU-6668 (Sugen Inc.), AVASTIN™ (Genentech), SH-268 (Schering), and NX-1838 (NeXstar) can also be combined with the compound of the present invention. VEGF inhibitors are described in, for example in WO 99/24440 (published May 20, 1999), PCT International Application PCT/IB99/00797 (filed May 3, 1999), in WO 95/21613 (published August 17, 1995), WO 99/61422 (published December 2, 1999), United States Patent 5,834,504 (issued November 10, 1998), WO 98/50356 (published November 12, 1998), United States Patent 5,883,113 (issued March 16, 1999), United States Patent 5,886,020 (issued March 23, 1999), United States Patent 5,792,783 (issued August 11, 1998), WO 99/10349 (published March 4, 1999), WO 97/32856 (published September 12, 1997), WO 97/22596 (published June 26, 1997), WO 98/54093 (published December 3, 1998), WO 98/02438 (published January 22, 1998), WO 99/16755 (published April 8, 1999), and WO 98/02437 (published January 22, 1998), all of which are incorporated herein in their entireties by reference. Other examples of some specific VEGF inhibitors useful in the present invention are IM862 (Cytran Inc.); anti-VEGF monoclonal antibody of Genentech, Inc.; and angiozyme, a synthetic ribozyme from Ribozyme and Chiron. These and other VEGF inhibitors can be used in the present invention as described herein. ErbB2 receptor inhibitors, such as GW-282974 (Glaxo Wellcome plc), and the monoclonal antibodies AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc.) and 2B-1

(Chiron), can furthermore be combined with the compound of the invention, for example those indicated in WO 98/02434 (published January 22, 1998), WO 99/35146 (published July 15, 1999), WO 99/35132 (published July 15, 1999), WO 98/02437 (published January 22, 1998), WO 97/13760 (published April 17, 1997),
5 WO 95/19970 (published July 27, 1995), United States Patent 5,587,458 (issued December 24, 1996), and United States Patent 5,877,305 (issued March 2, 1999), which are all hereby incorporated herein in their entireties by reference. ErbB2 receptor inhibitors useful in the present invention are also described in United States Patent 6,465,449 (issued October 15, 2002), and in United States Patent
10 6,284,764 (issued September 4, 2001), both of which are incorporated in their entireties herein by reference. The erbB2 receptor inhibitor compounds and substance described in the aforementioned PCT applications, U.S. patents, and U.S. provisional applications, as well as other compounds and substances that inhibit the erbB2 receptor, can be used with the compound of the present invention
15 in accordance with the present invention.

[0245] Anti-survival agents include anti-IGF-IR antibodies and anti-integrin agents, such as anti-integrin antibodies.

[0246] Anti-inflammatory agents can be used in conjunction with an anti-M-CSF antibody of the invention. For the treatment of rheumatoid arthritis, the human
20 anti-M-CSF antibodies of the invention may be combined with agents such as TNF- α inhibitors such as TNF drugs (such as REMICADE™, CDP-870 and HUMIRA™) and TNF receptor immunoglobulin molecules (such as ENBREL™), IL-1 inhibitors, receptor antagonists or soluble IL-1ra (e.g. Kineret or ICE inhibitors), COX-2 inhibitors (such as celecoxib, rofecoxib, valdecoxib and
25 etoricoxib), metalloprotease inhibitors (preferably MMP-13 selective inhibitors), p2X7 inhibitors, $\alpha 2\delta$ ligands (such as NEUROTIN™ AND PREGABALIN™), low dose methotrexate, leflunomide, hydroxychloroquine, d-penicillamine, auranofin or parenteral or oral gold. The compounds of the invention can also be used in combination with existing therapeutic agents for the treatment of
30 osteoarthritis. Suitable agents to be used in combination include standard non-steroidal anti-inflammatory agents (hereinafter NSAID's) such as piroxicam, diclofenac, propionic acids such as naproxen, flurbiprofen, fenoprofen, ketoprofen

and ibuprofen, fenamates such as mefenamic acid, indomethacin, sulindac, apazone, pyrazolones such as phenylbutazone, salicylates such as aspirin, COX-2 inhibitors such as celecoxib, valdecoxib, rofecoxib and etoricoxib, analgesics and intraarticular therapies such as corticosteroids and hyaluronic acids such as

5 hyalgan and synvisc.

[0247] Anti-coagulant agents can be used in conjunction with an anti-M-CSF antibody of the invention. Examples of anti-coagulant agents include, but are not limited to, warfarin (COUMADINTM), heparin, and enoxaparin (LOVENOXTM).

[0248] The human anti-M-CSF antibodies of the present invention may also be used in combination with cardiovascular agents such as calcium channel blockers, lipid lowering agents such as statins, fibrates, beta-blockers, Ace inhibitors, Angiotensin-2 receptor antagonists and platelet aggregation inhibitors. The compounds of the present invention may also be used in combination with CNS agents such as antidepressants (such as sertraline), anti-Parkinsonian drugs (such as deprenyl, L-dopa, REQUIPTM, MIRAPEXTM, MAOB inhibitors such as selegine and rasagiline, COMT inhibitors such as Tasmar, A-2 inhibitors, dopamine reuptake inhibitors, NMDA antagonists, Nicotine agonists, Dopamine agonists and inhibitors of neuronal nitric oxide synthase), and anti-Alzheimer's drugs such as donepezil, tacrine, $\alpha 2\delta$ LIGANDS (such NEUROTINTM and PREGABALINTM)

10 15 20 inhibitors, COX-2 inhibitors, propentofylline or metryfonate.

[0249] The human anti-M-CSF antibodies of the present invention may also be used in combination with osteoporosis agents such as roloxifene, droloxifene, lasofoxifene or fosomax and immunosuppressant agents such as FK-506 and rapamycin.

25 Diagnostic Methods of Use

[0250] In another aspect, the invention provides diagnostic methods. The anti-M-CSF antibodies can be used to detect M-CSF in a biological sample *in vitro* or *in vivo*. In one embodiment, the invention provides a method for diagnosing the presence or location of a M-CSF-expressing tumor in a subject in need thereof, comprising the steps of injecting the antibody into the subject, determining the

30 expression of M-CSF in the subject by localizing where the antibody has bound,

comparing the expression in the subject with that of a normal reference subject or standard, and diagnosing the presence or location of the tumor.

[0251] The anti-M-CSF antibodies can be used in a conventional immunoassay, including, without limitation, an ELISA, an RIA, FACS, tissue immunohistochemistry, Western blot or immunoprecipitation. The anti-M-CSF antibodies of the invention can be used to detect M-CSF from humans. In another embodiment, the anti-M-CSF antibodies can be used to detect M-CSF from primates such as cynomologus monkey, rhesus monkeys, chimpanzees or apes. The invention provides a method for detecting M-CSF in a biological sample comprising contacting a biological sample with an anti-M-CSF antibody of the invention and detecting the bound antibody. In one embodiment, the anti-M-CSF antibody is directly labeled with a detectable label. In another embodiment, the anti-M-CSF antibody (the first antibody) is unlabeled and a second antibody or other molecule that can bind the anti-M-CSF antibody is labeled. As is well known to one of skill in the art, a second antibody is chosen that is able to specifically bind the particular species and class of the first antibody. For example, if the anti-M-CSF antibody is a human IgG, then the secondary antibody could be an anti-human-IgG. Other molecules that can bind to antibodies include, without limitation, Protein A and Protein G, both of which are available commercially, e.g., from Pierce Chemical Co.

[0252] Suitable labels for the antibody or secondary antibody have been disclosed *supra*, and include various enzymes, prosthetic groups, fluorescent materials, luminescent materials and radioactive materials. Examples of suitable enzymes include horseradish peroxidase, alkaline phosphatase, β -galactosidase, or acetylcholinesterase; examples of suitable prosthetic group complexes include streptavidin/biotin and avidin/biotin; examples of suitable fluorescent materials include umbelliferone, fluorescein, fluorescein isothiocyanate, rhodamine, dichlorotriazinylamine fluorescein, dansyl chloride or phycoerythrin; an example of a luminescent material includes luminol; and examples of suitable radioactive material include ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S or ^3H .

[0253] In other embodiments, M-CSF can be assayed in a biological sample by a competition immunoassay utilizing M-CSF standards labeled with a detectable

52

substance and an unlabeled anti-M-CSF antibody. In this assay, the biological sample, the labeled M-CSF standards and the anti-M-CSF antibody are combined and the amount of labeled M-CSF standard bound to the unlabeled antibody is determined. The amount of M-CSF in the biological sample is inversely proportional to the amount of labeled M-CSF standard bound to the anti-M-CSF antibody.

[0254] One can use the immunoassays disclosed above for a number of purposes. For example, the anti-M-CSF antibodies can be used to detect M-CSF in cells or on the surface of cells in cell culture, or secreted into the tissue culture medium. The anti-M-CSF antibodies can be used to determine the amount of M-CSF on the surface of cells or secreted into the tissue culture medium that have been treated with various compounds. This method can be used to identify compounds that are useful to inhibit or activate M-CSF expression or secretion. According to this method, one sample of cells is treated with a test compound for a period of time while another sample is left untreated. If the total level of M-CSF is to be measured, the cells are lysed and the total M-CSF level is measured using one of the immunoassays described above. The total level of M-CSF in the treated versus the untreated cells is compared to determine the effect of the test compound.

[0255] An immunoassay for measuring total M-CSF levels is an ELISA or Western blot. If the cell surface level of M-CSF is to be measured, the cells are not lysed, and the M-CSF cell surface levels can be measured using one of the immunoassays described above. An immunoassay for determining cell surface levels of M-CSF can include the steps of labeling the cell surface proteins with a detectable label, such as biotin or ^{125}I , immunoprecipitating the M-CSF with an anti-M-CSF antibody and then detecting the labeled M-CSF. Another immunoassay for determining the localization of M-CSF, e.g., cell surface levels, can be immunohistochemistry. Methods such as ELISA, RIA, Western blot, immunohistochemistry, cell surface labeling of integral membrane proteins and immunoprecipitation are well known in the art. See, e.g., Harlow and Lane, *supra*. In addition, the immunoassays can be scaled up for high throughput screening in order to test a large number of compounds for inhibition or activation of M-CSF.

[0256] Another example of an immunoassay for measuring secreted M-CSF levels can be an antigen capture assay, ELISA, immunohistochemistry assay, Western blot and the like using antibodies of the invention. If secreted M-CSF is to be measured, cell culture media or body fluid, such as blood serum, urine, or synovial fluid, can be assayed for secreted M-CSF and/or cells can be lysed to release produced, but not yet secreted M-CSF. An immunoassay for determining secreted levels of M-CSF includes the steps of labeling the secreted proteins with a detectable label, such as biotin or ^{125}I , immunoprecipitating the M-CSF with an anti-M-CSF antibody and then detecting the labeled M-CSF. Another immunoassay for determining secreted levels of M-CSF can include the steps of (a) pre-binding anti-M-CSF antibodies to the surface of a microtiter plate; (b) adding tissue culture cell media or body fluid containing the secreted M-CSF to the wells of the microtiter plate to bind to the anti-M-CSF antibodies; (c) adding an antibody that will detect the anti-M-CSF antibody, e.g., anti-M-CSF labeled with digoxigenin that binds to an epitope of M-CSF different from the anti-M-CSF antibody of step (a); (d) adding an antibody to digoxigenin conjugated to peroxidase; and (e) adding a peroxidase substrate that will yield a colored reaction product that can be quantitated to determine the level of secreted M-CSF in tissue culture cell media or a body fluid sample. Methods such as ELISA, RIA, Western blot, immunohistochemistry, and antigen capture assay are well known in the art. See, e.g., Harlow and Lane, *supra*. In addition, the immunoassays can be scaled up for high throughput screening in order to test a large number of compounds for inhibition or activation of M-CSF.

[0257] The anti-M-CSF antibodies of the invention can also be used to determine the levels of cell surface M-CSF in a tissue or in cells derived from the tissue. In some embodiments, the tissue is from a diseased tissue. In some embodiments, the tissue can be a tumor or a biopsy thereof. In some embodiments of the method, a tissue or a biopsy thereof can be excised from a patient. The tissue or biopsy can then be used in an immunoassay to determine, e.g., total M-CSF levels, cell surface levels of M-CSF, or localization of M-CSF by the methods discussed above.

[0258] The method can comprise the steps of administering a detectably labeled anti-M-CSF antibody or a composition comprising them to a patient in need of

such a diagnostic test and subjecting the patient to imaging analysis to determine the location of the M-CSF-expressing tissues. Imaging analysis is well known in the medical art, and includes, without limitation, x-ray analysis, magnetic resonance imaging (MRI) or computed tomography (CE). The antibody can be

5 labeled with any agent suitable for *in vivo* imaging, for example a contrast agent, such as barium, which can be used for x-ray analysis, or a magnetic contrast agent, such as a gadolinium chelate, which can be used for MRI or CE. Other labeling agents include, without limitation, radioisotopes, such as ⁹⁹Tc. In another embodiment, the anti-M-CSF antibody will be unlabeled and will be imaged by

10 administering a second antibody or other molecule that is detectable and that can bind the anti-M-CSF antibody. In an embodiment, a biopsy is obtained from the patient to determine whether the tissue of interest expresses M-CSF.

[0259] The anti-M-CSF antibodies of the invention can also be used to determine the secreted levels of M-CSF in a body fluid such as blood serum, urine, or

15 synovial fluid derived from a tissue. In some embodiments, the body fluid is from a diseased tissue. In some embodiments, the body fluid is from a tumor or a biopsy thereof. In some embodiments of the method, body fluid is removed from a patient. The body fluid is then used in an immunoassay to determine secreted M-CSF levels by the methods discussed above. One embodiment of the invention is a

20 method of assaying for the activity of a M-CSF antagonist comprising: administering a M-CSF antagonist to a primate or human subject and measuring the number of CD14+CD16+ monocytes in a biological sample.

Therapeutic Methods of Use

25 [0260] In another embodiment, the invention provides a method for inhibiting M-CSF activity by administering an anti-M-CSF antibody to a patient in need thereof. Any of the types of antibodies described herein may be used therapeutically. In a preferred embodiment, the anti-M-CSF antibody is a human, chimeric or humanized antibody. In another preferred embodiment, the M-CSF is

30 human and the patient is a human patient. Alternatively, the patient may be a mammal that expresses a M-CSF that the anti-M-CSF antibody cross-reacts with. The antibody may be administered to a non-human mammal expressing a M-CSF

with which the antibody cross-reacts (i.e. a primate) for veterinary purposes or as an animal model of human disease. Such animal models may be useful for evaluating the therapeutic efficacy of antibodies of this invention.

[0261] As used herein, the term "a disorder in which M-CSF activity is detrimental" is intended to include diseases and other disorders in which the presence of high levels of M-CSF in a subject suffering from the disorder has been shown to be or is suspected of being either responsible for the pathophysiology of the disorder or a factor that contributes to a worsening of the disorder. Such disorders may be evidenced, for example, by an increase in the levels of M-CSF secreted and/or on the cell surface or increased tyrosine antophosphorylation of *c-fms* in the affected cells or tissues of a subject suffering from the disorder. The increase in M-CSF levels may be detected, for example, using an anti-M-CSF antibody as described above.

[0262] In one embodiment, an anti-M-CSF antibody may be administered to a patient who has a *c-fms*-expressing tumor or a tumor that secretes M-CSF and/or that expresses M-CSF on its cell surface. Preferably, the tumor expresses a level of *c-fms* or M-CSF that is higher than a normal tissue. The tumor may be a solid tumor or may be a non-solid tumor, such as a lymphoma. In a more preferred embodiment, an anti-M-CSF antibody may be administered to a patient who has a *c-fms*-expressing tumor, a M-CSF-expressing tumor, or a tumor that secretes M-CSF that is cancerous. Further, the tumor may be cancerous. In an even more preferred embodiment, the tumor is a cancer of lung, breast, prostate or colon. In another preferred embodiment, the anti-M-CSF antibody administered to a patient results in M-CSF no longer bound to the *c-fms* receptor. In a highly preferred embodiment, the method causes the tumor not to increase in weight or volume or to decrease in weight or volume. In another embodiment, the method causes *c-fms* on tumor cells to not be bound by M-CSF. In another embodiment, the method causes M-CSF on tumor cells to not be bound to *c-fms*. In another embodiment, the method causes secreted M-CSF of the tumor cells to not be bound to *c-fms*. In a preferred embodiment, the antibody is selected from 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-

Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1, or comprises a heavy chain, light chain or antigen binding region thereof.

- [0263] In another preferred embodiment, an anti-M-CSF antibody may be administered to a patient who expresses inappropriately high levels of M-CSF. It is known in the art that high-level expression of M-CSF can lead to a variety of common cancers. In one embodiment, said method relates to the treatment of cancer such as brain, squamous cell, bladder, gastric, pancreatic, breast, head, neck, esophageal, prostate, colorectal, lung, renal, kidney, ovarian, gynecological or thyroid cancer. Patients that can be treated with a compounds of the invention according to the methods of this invention include, for example, patients that have been diagnosed as having lung cancer, bone cancer, pancreatic cancer, skin cancer, cancer of the head and neck, cutaneous or intraocular melanoma, uterine cancer, ovarian cancer, rectal cancer, cancer of the anal region, stomach cancer, colon cancer, breast cancer, gynecologic tumors (e.g., uterine sarcomas, carcinoma of the fallopian tubes, carcinoma of the endometrium, carcinoma of the cervix, carcinoma of the vagina or carcinoma of the vulva), Hodgkin's disease, cancer of the esophagus, cancer of the small intestine, cancer of the endocrine system (e.g., cancer of the thyroid, parathyroid or adrenal glands), sarcomas of soft tissues, cancer of the urethra, cancer of the penis, prostate cancer, chronic or acute leukemia, solid tumors (e.g., sarcomas, carcinomas or lymphomas that are cancers of body tissues other than blood, bone marrow or the lymphatic system), solid tumors of childhood, lymphocytic lymphomas, cancer of the bladder, cancer of the kidney or ureter (e.g., renal cell carcinoma, carcinoma of the renal pelvis), or neoplasms of the central nervous system (e.g., primary CNS lymphoma, spinal axis tumors, brain stem gliomas or pituitary adenomas). In a more preferred embodiment, the anti-M-CSF antibody is administered to a patient with breast cancer, prostate cancer, lung cancer or colon cancer. In an even more preferred embodiment, the method causes the cancer to stop proliferating abnormally, or not to increase in weight or volume or to decrease in weight or volume.
- [0264] The antibody may be administered once, but more preferably is administered multiple times. For example, the antibody may be administered from three times daily to once every six months or longer. The administering may be on

a schedule such as three times daily, twice daily, once daily, once every two days, once every three days, once weekly, once every two weeks, once every month, once every two months, once every three months and once every six months. The antibody may also be administered continuously via a minipump. The antibody
5 may be administered via an oral, mucosal, buccal, intranasal, inhalable, intravenous, subcutaneous, intramuscular, parenteral, intratumor or topical route. The antibody may be administered at the site of the tumor or inflamed body part, into the tumor or inflamed body part, or at a site distant from the site of the tumor or inflamed body part. The antibody may be administered once, at least twice or
10 for at least the period of time until the condition is treated, palliated or cured. The antibody generally will be administered for as long as the tumor is present provided that the antibody causes the tumor or cancer to stop growing or to decrease in weight or volume or until the inflamed body part is healed. The antibody will generally be administered as part of a pharmaceutical composition as
15 described *supra*. The dosage of antibody will generally be in the range of 0.1-100 mg/kg, more preferably 0.5-50 mg/kg, more preferably 1-20 mg/kg, and even more preferably 1-10 mg/kg. The serum concentration of the antibody may be measured by any method known in the art.

[0265] In another aspect, the anti-M-CSF antibody may be co-administered with
20 other therapeutic agents, such as anti-inflammatory agents, anti-coagulant agents, agents that will lower or reduce blood pressure, anti-neoplastic drugs or molecules, to a patient who has a hyperproliferative disorder, such as cancer or a tumor. In one aspect, the invention relates to a method for the treatment of the hyperproliferative disorder in a mammal comprising administering to said mammal
25 a therapeutically effective amount of a compound of the invention in combination with an anti-tumor agent selected from the group consisting of, but not limited to, mitotic inhibitors, alkylating agents, anti-metabolites, intercalating agents, growth factor inhibitors, cell cycle inhibitors, enzymes, topoisomerase inhibitors, biological response modifiers, anti-hormones, kinase inhibitors, matrix
30 metalloprotease inhibitors, genetic therapeutics and anti-androgens. In a more preferred embodiment, the antibody may be administered with an antineoplastic agent, such as adriamycin or taxol. In another preferred embodiment, the antibody

or combination therapy is administered along with radiotherapy, chemotherapy, photodynamic therapy, surgery or other immunotherapy. In yet another preferred embodiment, the antibody will be administered with another antibody. For example, the anti-M-CSF antibody may be administered with an antibody or other agent that is known to inhibit tumor or cancer cell proliferation, e.g., an antibody

5 agent that inhibits erbB2 receptor, EGF-R, CD20 or VEGF.

[0266] Co-administration of the antibody with an additional therapeutic agent (combination therapy) encompasses administering a pharmaceutical composition comprising the anti-M-CSF antibody and the additional therapeutic agent and

10 administering two or more separate pharmaceutical compositions, one comprising the anti-M-CSF antibody and the other(s) comprising the additional therapeutic agent(s). Further, although co-administration or combination therapy generally means that the antibody and additional therapeutic agents are administered at the same time as one another, it also encompasses instances in which the antibody and

15 additional therapeutic agents are administered at different times. For instance, the antibody may be administered once every three days, while the additional therapeutic agent is administered once daily. Alternatively, the antibody may be administered prior to or subsequent to treatment of the disorder with the additional therapeutic agent. Similarly, administration of the anti-M-CSF antibody may be

20 administered prior to or subsequent to other therapy, such as radiotherapy, chemotherapy, photodynamic therapy, surgery or other immunotherapy

[0267] The antibody and one or more additional therapeutic agents (the combination therapy) may be administered once, twice or at least the period of time until the condition is treated, palliated or cured. Preferably, the combination

25 therapy is administered multiple times. The combination therapy may be administered from three times daily to once every six months. The administering may be on a schedule such as three times daily, twice daily, once daily, once every two days, once every three days, once weekly, once every two weeks, once every month, once every two months, once every three months and once every six

30 months, or may be administered continuously via a minipump. The combination therapy may be administered via an oral, mucosal, buccal, intranasal, inhalable, intravenous, subcutaneous, intramuscular, parenteral, intratumor or topical route.

The combination therapy may be administered at a site distant from the site of the tumor. The combination therapy generally will be administered for as long as the tumor is present provided that the antibody causes the tumor or cancer to stop growing or to decrease in weight or volume.

5 [0268] In a still further embodiment, the anti-M-CSF antibody is labeled with a radiolabel, an immunotoxin or a toxin, or is a fusion protein comprising a toxic peptide. The anti-M-CSF antibody or anti-M-CSF antibody fusion protein directs the radiolabel, immunotoxin, toxin or toxic peptide to the M-CSF-expressing cell. In a preferred embodiment, the radiolabel, immunotoxin, toxin or toxic peptide is
10 internalized after the anti-M-CSF antibody binds to the M-CSF on the surface of the target cell.

[0269] In another aspect, the anti-M-CSF antibody may be used to treat noncancerous states in which high levels of M-CSF and/or M-CSF have been associated with the noncancerous state or disease. In one embodiment, the method
15 comprises the step of administering an anti-M-CSF antibody to a patient who has a noncancerous pathological state caused or exacerbated by high levels of M-CSF and/or M-CSF levels or activity. In a more preferred embodiment, the anti-M-CSF antibody slows the progress of the noncancerous pathological state. In a more preferred embodiment, the anti-M-CSF antibody stops or reverses, at least in part,
20 the noncancerous pathological state.

Gene Therapy

[0270] The nucleic acid molecules of the instant invention can be administered to a patient in need thereof via gene therapy. The therapy may be either *in vivo* or *ex vivo*. In a preferred embodiment, nucleic acid molecules encoding both a heavy
25 chain and a light chain are administered to a patient. In a more preferred embodiment, the nucleic acid molecules are administered such that they are stably integrated into chromosomes of B cells because these cells are specialized for producing antibodies. In a preferred embodiment, precursor B cells are transfected or infected *ex vivo* and re-transplanted into a patient in need thereof. In another
30 embodiment, precursor B cells or other cells are infected *in vivo* using a virus known to infect the cell type of interest. Typical vectors used for gene therapy include liposomes, plasmids and viral vectors. Exemplary viral vectors are

retroviruses, adenoviruses and adeno-associated viruses. After infection either *in vivo* or *ex vivo*, levels of antibody expression can be monitored by taking a sample from the treated patient and using any immunoassay known in the art or discussed herein.

- 5 [0271] In a preferred embodiment, the gene therapy method comprises the steps of administering an isolated nucleic acid molecule encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof of an anti-M-CSF antibody and expressing the nucleic acid molecule. In another embodiment, the gene therapy method comprises the steps of administering an isolated nucleic acid molecule encoding the light chain or an antigen-binding portion thereof of an anti-M-CSF antibody and expressing the nucleic acid molecule. In a more preferred method, the gene therapy method comprises the steps of administering of an isolated nucleic acid molecule encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof and an isolated nucleic acid molecule encoding the light chain or the antigen-binding portion thereof of an anti-M-CSF antibody of the invention and expressing the nucleic acid molecules. The gene therapy method may also comprise the step of administering another anti-cancer agent, such as taxol or adriamycin.
- 10 [0272] In order that this invention may be better understood, the following examples are set forth. These examples are for purposes of illustration only and are not to be construed as limiting the scope of the invention in any manner.
- 15
- 20

EXAMPLE I

Generation of Cell Lines Producing Anti-M-CSF Antibody

[0273] Antibodies of the invention were prepared, selected, and assayed as follows:

25 *Immunization and hybridoma generation*

Eight to ten week old XENOMOUSE™ mice were immunized intraperitoneally or in their hind footpads with human M-CSF (10 µg/dose/mouse). This dose was repeated five to seven times over a three to eight week period. Four days before fusion, the mice were given a final injection of human M-CSF in PBS. The spleen and lymph node lymphocytes from immunized mice were fused with the non-secretory myeloma P3-X63-Ag8.653 cell line, and the fused cells were subjected to HAT selection as previously described (Galfre and Milstein, *Methods Enzymol.*

30

73:3-46, 1981). A panel of hybridomas all secreting M-CSF specific human IgG2 and IgG4 antibodies was recovered. Antibodies also were generated using XENOMAX™ technology as described in Babcook, J.S. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:7843-48, 1996. Nine cell lines engineered to produce antibodies of the invention were selected for further study and designated 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4, 8.10.3 and 9.7.2. The hybridomas were deposited under terms in accordance with the Budapest Treaty with the American Type Culture Collection (ATCC), 10801 University Blvd., Manassas, VA 20110-2209 on August 8, 2003. The hybridomas have been assigned the following accession numbers:

	Hybridoma 3.8.3 (LN 15891)	PTA-5390
	Hybridoma 2.7.3 (LN 15892)	PTA-5391
	Hybridoma 1.120.1 (LN 15893)	PTA-5392
	Hybridoma 9.7.2 (LN 15894)	PTA-5393
15	Hybridoma 9.14.4 (LN 15895)	PTA-5394
	Hybridoma 8.10.3 (LN 15896)	PTA-5395
	Hybridoma 88-gamma (UC 25489)	PTA-5396
	Hybridoma 88-kappa (UC 25490)	PTA-5397
	Hybridoma 100-gamma (UC 25491)	PTA-5398
20	Hybridoma 100-kappa (UC 25492)	PTA-5399
	Hybridoma 252-gamma (UC 25493)	PTA-5400
	Hybridoma 252-kappa (UC 25494)	PTA-5401

EXAMPLE II

Gene Utilization Analysis

[0274] DNA encoding the heavy and light chains of monoclonal antibodies 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4, 8.10.3 and 9.7.2 was cloned from the respective hybridoma cell lines and the DNA sequences were determined by methods known to one skilled in the art. Additionally, DNA from the hybridoma cell lines 9.14.4, 8.10.3 and 9.7.2 was mutated at specific framework regions in the variable domain and/or isotype-switched to obtain, for example, 9.14.4I, 8.10.3F, and 9.7.2IF, respectively. From nucleic acid sequence and predicted amino acid sequence of the antibodies, the identity of the gene usage for each antibody chain was determined ("VBASE"). Table 2 sets forth the gene utilization of selected antibodies in accordance with the invention:

16
57

Table 2
Heavy and Light Chain Gene Utilization

Clone	Heavy Chain				Kappa Light Chain		
	SEQ ID NO:	V _H	D _H	J _H	SEQ ID NO:	V _L	J _L
252	1, 2	3-11	7-27	6	3, 4	O12	3
88	5, 6	3-7	6-13	4	7, 8	O12	3
100	9, 10	3-23	1-26	4	11, 12	L2	3
3.8.3	14	3-11	7-27	4	16	L5	3
2.7.3	18	3-33	1-26	4	20	L5	4
1.120.1	22	1-18	4-23	4	24	B3	1
9.14.4I	25, 26	3-11	7-27	4b	27, 28	O12	3
8.10.3F	29, 30	3-48	1-26	4b	31, 32	A27	4
9.7.2IF	33, 34	3-11	6-13	6b	35, 36	O12	3
9.14.4	37, 38	3-11	7-27	4b	27, 28	O12	3
8.10.3	29, 30	3-48	1-26	4b	43, 44	A27	4
9.7.2	45, 46	3-11	6-13	6b	47, 48	O12	3
8.10.3FG1	97, 98	3-48	1-26	4b	31, 32	A27	4
9.14.4G1	101, 102	3-11	7-27	4b	27, 28	O12	3
9.14.4C-Ser	54	3-11	7-27	4b	56	O12	3
9.14.4-CG2	74	3-11	7-27	4b	56	O12	3
9.14.4-CG4	78	3-11	7-27	4b	56	O12	3
8.10.3C-Ser	58	3-48	1-26	4b	60	A27	4
8.10.3-CG2	62	3-48	1-26	4b	60	A27	4
8.10.3-CG4	94	3-48	1-26	4b	60	A27	4
8.10.3-Ser	90	3-48	1-26	4b	43, 44	A27	4
9.7.2C-Ser	50	3-11	6-13	6b	52	O12	3
9.7.2-CG2	66	3-11	6-13	6b	52	O12	3
9.7.2-CG4	70	3-11	6-13	6b	52	O12	3
9.7.2-Ser	86	3-11	6-13	6b	47, 48	O12	3
9.14.4-Ser	82	3-11	7-27	4b	27, 28	O12	3

- [0275] Mutagenesis of specific residues of the heavy and light chains was carried out by designing primers and using the QuickChange Site Directed Mutagenesis Kit from Stratagene, according to the manufacturer's instructions. Mutations were confirmed by automated sequencing, and mutagenized inserts were subcloned into expression vectors. The expression vectors were transfected into HEK293 cells to produce enough of the antibodies for characterization.

EXAMPLE III

M-CSF Mouse Monocytic Cell Proliferation Assay

- 10 [0276] *In vitro* assays were conducted to measure M-CSF-dependent mouse monocytic cell proliferation in the presence of anti-M-CSF antibodies to determine the degree of inhibition by anti-M-CSF antibodies.
- [0277] Mouse monocytic cells, M-NFS-60 cells, from American Type Culture Collection (ATCC) (Manassas, VA), were obtained and maintained in RPMI-1640 medium containing 2 mM L-glutamine (ATCC), 10% heat inactivated fetal bovine serum (FBS) (Invitrogen, Carlsbad, CA), 0.05 mM 2-mercaptoethanol (Sigma, St. Louis MO) (assay medium), with 15 ng/ml human M-CSF. M-NSF-60 cells were split to 5×10^4 for next day use or to 2.5×10^4 for use in 2 days. Prior to use in the assay, the cells were washed three times with RPMI-1640, counted and the volume adjusted with assay medium to yield 2×10^5 cells/ml. All conditions were conducted in triplicate in 96-well treated tissue culture plates (Corning, Corning, NY). To each well 50 μ l of the washed cells, either 100 pM or 1000 pM M-CSF in a volume of 25 μ l and test or control antibody at various concentrations in a volume of 25 μ l in acetate buffer (140 mM sodium chloride, 20 mM sodium acetate, and 0.2 mg/ml polysorbate 80, pH 5.5) to a final volume of 100 μ l was added. Antibodies of the invention were tested alone and with human M-CFS. The plates were incubated for 24 hours (hrs) at 37°C with 5% CO₂.
- 25 [0278] After 24 hrs, 10 μ l/well of 0.5 μ Ci ³H-thymidine (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ) was added and pulsed with the cells for 3 hrs. To detect the amount of incorporated thymidine, the cells were harvested onto pre-wet unifilter GF/C filterplates (Packard, Meriden, CT) and washed 10 times with water. The
- 30

plates were allowed to dry overnight. Bottom seals were added to the filterplates. Next, 45 μ l Microscint 20 (Packard, Meriden, CT) per well was added. After a top seal was added, the plates were counted in a Trilux microbeta counter (Wallac, Norton, OH).

- 5 [0279] These experiments demonstrate that anti-M-CSF antibodies of the invention inhibit mouse monocytic cell proliferation in response to M-CSF. Further, by using various concentrations of antibodies, the IC_{50} for inhibition of mouse monocytic cell proliferation was determined for antibodies 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, and 9.7.2 (Cell
- 10 Proliferation Assay, Table 3a and Table 3b).

Table 3a

Antibody	252	88	100	3.8.3	2.7.3	1.120.1
M-CSF Mouse Monocytic Cell Proliferation Assay [IC ₅₀ , M]	1.86 x 10 ⁻¹⁰	2.31 x 10 ⁻¹⁰	7.44 x 10 ⁻¹⁰	7.3 x 10 ⁻¹¹	1.96 x 10 ⁻¹⁰	1.99 x 10 ⁻¹⁰
Human Whole Blood Monocyte Activation Assay [IC ₅₀ , M]	8.67 x 10 ⁻¹⁰	5.80 x 10 ⁻¹⁰	1.53 x 10 ⁻¹⁰	8.6 x 10 ⁻¹¹	7.15 x 10 ⁻¹⁰	8.85 x 10 ⁻¹⁰
Receptor Binding Inhibition Assay [IC ₅₀ , M]	7.47 x 10 ⁻¹⁰	4.45 x 10 ⁻¹⁰	1.252 x 10 ⁻⁹	7.0 x 10 ⁻¹¹	3.08 x 10 ⁻¹⁰	1.57 x 10 ⁻¹⁰

Table 3b

Antibody	9.14.41	8.10.31	9.7.21F	9.14.4	8.10.3	9.7.2
M-CSF Mouse Monocytic Cell Proliferation Assay [IC ₅₀ , M]	2.02 x 10 ⁻¹⁰	4.13 x 10 ⁻¹⁰	7.37 x 10 ⁻¹⁰	2.02 x 10 ⁻¹⁰	4.13 x 10 ⁻¹⁰	7.37 x 10 ⁻¹⁰
Human Whole Blood Monocyte Activation Assay [IC ₅₀ , M]	2.49 x 10 ⁻¹⁰	4.46 x 10 ⁻¹⁰	1.125 x 10 ⁻⁹	6.48 x 10 ⁻¹⁰	2.8 x 10 ⁻¹⁰	1.98 x 10 ⁻¹⁰
Receptor Binding Inhibition Assay [IC ₅₀ , M]	2.97 x 10 ⁻¹⁰	9.8 x 10 ⁻¹¹	5.29 x 10 ⁻¹⁰	4.1 x 10 ⁻¹¹	1.5 x 10 ⁻⁹	6 x 10 ⁻¹²

5

EXAMPLE IV**Human Whole Blood Monocyte Activation Assay**

[0280] *In vitro* assays were conducted to measure M-CSF dependent monocyte shape changes in the presence of anti-M-CSF antibodies to determine if the anti-M-CSF antibodies were capable of inhibiting whole blood monocyte activation and their degree of inhibition of monocyte shape changes.

[0281] In individual wells of a 96-well tissue culture plate, 6 μ l of 1.7 nM anti-M-CSF and 94 μ l of whole human blood for a final concentration of 102 pM anti-M-CSF antibody were mixed. The plates were incubated at 37°C in a CO₂ tissue

culture incubator. Next, the plates were removed from the incubator. To each well, 100 μ l of a fixative solution (0.5% formalin in phosphate buffered saline without $MgCl_2$ or $CaCl_2$) was added and the plates were incubated for 10 minutes at room temperature. For each sample, 180 μ l from each well and 1 ml of Red Cell Lysis Buffer were mixed. The tubes were vortexed for 2 seconds. Next, the samples were incubated at 37°C for 5 minutes in a shaking water bath to lyse the red blood cells, but to leave monocytes intact. Immediately following this incubation, the samples were read on a fluorescence-activated cell scanning (FACS) machine (BD Beckman FACS) and data was analyzed using FACS Station Software Version 3.4.

[0282] These experiments demonstrate that anti-M-CSF antibodies of the invention inhibit monocyte shape changes compared to control samples. Using the monocyte shape change assay, the IC_{50} was determined for antibodies 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, and 9.7.2 (Human Whole Blood Monocyte Activation, Table 3a and Table 3b).

EXAMPLE V

c-fms Receptor Binding Inhibition Assay

[0283] *In vitro* assays were conducted to measure M-CSF binding to *c-fms* receptor in the presence of anti-M-CSF antibodies to determine if the anti-M-CSF antibodies were capable of inhibiting M-CSF binding to *c-fms* receptor and their degree of inhibition.

[0284] NIH-3T3 cells transfected with human *c-fms* or M-NSF-60 cells maintained in Dulbecco's phosphate buffered saline without magnesium or calcium were washed. NIH-3T3 cells were removed from tissue culture plates with 5 mM ethylene-diamine-tetra-acetate (EDTA), pH 7.4. The NIH-3T3 cells were returned to the tissue culture incubator for 1-2 minutes and the flask(s) were tapped to loosen the cells. The NIH-3T3 cells and the M-NSF-60 cells were transferred to 50 ml tubes and washed twice with reaction buffer (1x RPMI without sodium bicarbonate containing 50 mM N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid (HEPES), pH 7.4). Next, the NIH-3T3 cells were resuspended

in reaction buffer for a final concentration of 1.5×10^5 cell/ml. The M-NSF-60 cells were resuspended in a reaction buffer for a final concentration of 2.5×10^6 cells/ml.

[0285] For the assay, 9 μ l of a sterile 0.4 M sucrose solution, 100 μ l of 125 I-M-CSF (Amersham, IMQ7228v) at a final concentration of 200 pM in RPMI-1640 containing 50 mM HEPES (pH 7.4), 0.2% bovine serum albumin, and 100 μ l of unlabeled M-CSF at a final concentration of 200 nM were mixed in a binding tube. Next, 50 μ l/tube of increasing concentrations of a test antibody was added. In order to determine non-specific binding of the antibodies, we included samples to which we also added 200 nM M-CSF. To control tubes, we did not add antibody. Next, 15,000 NIH-3T3 cells or 250,000 M-NSF-60 cells were added per tube. All tubes were incubated at room temperature for 3 hrs and subjected to centrifugation at 10,000 rpm for 2 min. The tips of the tubes containing the cell pellets were cut off and the amount of M-CSF bound to the cells was determined using a Packard Cobra II Gamma counter. The specific binding was determined by subtracting non-specific binding from total binding. All assays were performed in duplicate. The binding data was analyzed using the computer program, Graph Pad Prism 2.01.

[0286] These experiments demonstrate that anti-M-CSF antibodies of the invention inhibit the binding of M-CSF to *c-fms* receptor compared to control samples. Further, by using various concentrations of antibodies, the IC_{50} for inhibition of receptor binding was determined for antibodies 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, and 9.7.2 (Receptor Binding Inhibition Assay, Table 3a and Table 3b).

25

EXAMPLE VI

Determination of Affinity Constants (K_D) of Anti-M-CSF Monoclonal Antibodies by BIACORETM

[0287] Affinity measures of purified antibodies were performed by surface plasmon resonance using the BIACORETM 3000 instrument, following the manufacturer's protocols.

30

[0288] For antibodies 3.8.3, 2.7.3 and 1.120.1, the experiments were performed in a BIACORE™ 3000 instrument at 25°C in Dulbecco's phosphate buffered saline containing 0.0005% Tween-20. Protein concentrations were obtained from sedimentation velocity experiments or by measuring the wavelength of the sample at 280 nm using theoretical extinction coefficients derived from amino acid sequences. For experiments measuring the binding of antibody to immobilized antigens, M-CSF was immobilized on a B1 chip by standard direct amine coupling procedures. Antibody samples were prepared at 0.69 μ M for 3.8.3, 2.7.3 and 1.120.1. These samples were diluted 3-fold serially to 8.5 nM or 2.8 nM for roughly a 100-fold range in concentrations. For each concentration, the samples were injected in duplicate at 5 μ l/min flow for 4 min. The dissociation was monitored for 2000 seconds. The data were fit globally to a simple 1:1 binding model using BIACORE™ Biaevaluation software. In all cases, this method was used to obtain k_{off} and it was found that this data set compared well to data obtained from global fit of association and dissociation data.

[0289] For antibodies 252, 88 and 100, the experiments were performed in a BIACORE™ 3000 instrument at 25°C in HBS-EP Buffer (0.01M HEPES, pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.005% Surfactant P20). For experiments measuring the binding of antibody to immobilized antigens, a M-CSF was immobilized on a CM5 Research Grade Sensor chip by standard direct amine coupling procedures. Antibody samples were prepared at 12.5 nM for antibodies 252 and 100 and at 25.0 nM for antibody 88. These samples were two-fold serially diluted to 0.78 nM for roughly a 15-30 fold range in concentrations. For each concentration, the samples were injected in duplicate in random order at 30 μ l/min flow for 3 min. The dissociation was monitored for 300 sec. The data were fit globally to a simple 1:1 binding model using BIACORE™ Biaevaluation software. In all cases, this method was used to obtain k_{off} and it was found that this data set compared well to data obtained from global fit of association and dissociation data.

[0290] Table 4 shows results for antibodies 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3 and 1.120.1.

Table 4

	252	88	100	3.8.3	2.7.3	1.120.1
K_D (M)	1.33×10^{-11}	1.33×10^{-9}	2.0×10^{-11}	4.0×10^{-10}	4.7×10^{-9}	5.4×10^{-9}
k_{off} (1/s)	1.03×10^{-6}	7.3×10^{-5}	1.7×10^{-5}			

EXAMPLE VII**Production of 8.10.3 antibodies from 8.10.3 hybridoma cells**

5 [0291] Antibody 8.10.3 was produced in 3L sparged spinners. The 3L sparged spinner flask is a glass vessel where cultures are mixed with an impeller controlled by a magnetic platform. The spinner is connected to gas lines to provide 5% CO₂ and air. 8.10.3 hybridoma cells were initially thawed into T-25 cell culture flasks. The cells were progressively expanded until there was a sufficient number of cells to seed the sparged spinners.

10 [0292] Two 3L sparged spinner flasks were seeded with 8.10.3 hybridoma cells in Hybridoma Serum-Free Medium with the additions noted on Table 5, for the two sparged flasks. The concentrations for Ultra low IgG serum (Gibco cat# 16250-078), L-glutamine (JRH Biosciences cat# 59202-500M), Non-Essential Amino Acids (Gibco cat# 11140-050), Peptone (Difco cat# 211693), glucose (In-house stock prepared from JT Baker cat# 1920-07), and Anti-foam C (Sigma cat# A-8011) are given at their final concentrations in the media. The balance of the volume in each reactor is Hybridoma Serum-Free Medium.

20 Table 5. Conditions for Growing Hybridoma 8.10.3 in two 3L sparged spinners.

Conditions	Spinner 1	Spinner 2
Seeding density (1×10^6 cells/ml)	0.16 ml	0.16 ml
Hybridoma Serum-Free Medium (Gibco cat# 12045-076)	Balance	Balance
Ultra low IgG serum (Gibco cat# 16250-078)	5%	5%
L-glutamine (JRH Biosciences cat# 59202-500M)	8 mmol/L	8mmol/L

68
61

Conditions	Spinner 1	Spinner 2
Non-Essential Amino Acids (Gibco cat# 11140-050)	1%	1%
Peptone (Difco cat# 211693)	1g/L	1g/L
2M glucose (In-house stock prepared from JT Baker cat# 1920-07)	8g/L	8g/L
Anti-foam C (Sigma cat.# A-8011)	1ml/L	1ml/L

[0293] The cultures were grown for 15 days and were harvested when the viability was below 20%. Viability was determined by trypan blue exclusion method with an automated cell counter (Cedex, Innovatis). Harvesting was accomplished by centrifugation and subsequent filtration. Clarified supernatant was obtained after centrifugation for 15 minutes at 7000 rpm and subsequent filtration with a sterile 0.22 μ m 4" Opticap Millipore filter (cat# KVSCO4HB3) into a 10L sterile-TC-Tech bag (cat # P/N 12420 Bag Style CC-10-112420). The filtrate was then purified in the following example.

10

EXAMPLE VIII

Purification of an Anti-M-CSF Antibody

[0294] A Protein A column (Ameraham Pharmacia) was prepped by washing with 3 column volumes of 8M Urea, followed by an equilibration wash with 20 mM Tris (pH 8). The final filtrate from Example VII was spiked with 2% v/v of 1M Tris pH 8.3 and 0.02% NaN₃ before being loaded onto the Protein A column via gravity-drip mode. After load was complete, the resin was washed with 5 column volumes of 20 mM Tris (pH 8), followed by 5 column volumes of the elution buffer (0.1 M Glycine pH 3.0). Any precipitation was noted, and then a 10% v/v spike of 1M Tris pH 8.3 was added to the eluted antibody. The eluted protein was then dialyzed into 100 fold the volume amount of eluted material of dialysis buffer (140 mM NaCl/20mM Sodium Acetate pH 5.5). Following dialysis, the antibody was sterile filtered with a 0.22 μ m filter and stored until further use.

25

EXAMPLE IX

Monkey Treatment and Monocyte Counts

[0295] One male and one female cynomolgus monkey per dosage group were intravenously administered vehicle or antibody 8.10.3 (produced as describe in
5 Examples VII and VIII) at 0, 0.1, 1, or 5 mg/kg in a dose volume of 3.79 mL/kg over an approximately 5 minute period. Blood samples for clinical laboratory analysis were collected at 24 and 72 hours postdose and weekly for 3 weeks. The monocyte counts were determined by light scatter using an Abbott Diagnostics Inc. Cell Dyn system (Abbott Park, Illinois).

10 [0296] A dose-related decrease (~25% to 85%) in total monocytes at all doses (Figures 1A and 1B) was observed. Monocyte counts at the 0.1 and 1 mg/kg appeared to rebound to near control levels by week 2, while monocyte counts at 5 mg/kg were still decreased at 3 weeks.

CD14+CD16+ monocyte subset analysis

15 [0297] Primate whole blood was drawn into Vacutainer tubes containing sodium heparin. 0.2 ml of each blood sample was added to a 15 ml conical polypropylene centrifuge tube containing 10 ml of red blood cell lysis buffer (Sigma), and incubated in a 37°C water bath for 15 minutes. The tubes were then centrifuged in a Sorvall RT7 centrifuge for 5 minutes at 1,200 rpm. The supernatant was
20 aspirated, the pellet resuspended in 10 ml of 4°C FACS buffer (Hanks' Balanced Salt Solution/2%FBS/0.02% sodium azide), and the tube centrifuged again for 5 minutes at 1,200 rpm. The supernatant was aspirated and the pellet resuspended in an antibody cocktail consisting of 80 µl 4°C FACS buffer, 10 µl FITC-conjugated anti-human CD14 monoclonal antibody (BD Biosciences, San Diego, CA), 0.5 µl
25 Cy5-PE-conjugated anti-human CD16 monoclonal antibody (BD Biosciences, San Diego, CA), and 10 µl PE-conjugated anti-human CD89 monoclonal antibody (BD Biosciences, San Diego, CA). The cell suspension was incubated on ice for 20 minutes, after which 10 ml of 4°C FACS buffer was added and the cells centrifuged as before. The supernatant was aspirated, and the cell pellet
30 resuspended in 400 µl FACS buffer and the cells analyzed on a FACSCaliber flow

cytometer (BD Biosciences, San Jose, CA). Data for 30,000 cells were collected from each sample.

[0298] The monocyte population was identified by a combination of forward angle light scatter and orthogonal light scatter. Cells within the monocyte gate were further analyzed for expression of CD14 and CD16. Two distinct population of monocytes were observed, one expressing high levels of CD14 with little or no CD16 expression (CD14++CD16-) and the other expressing lower levels of CD14, but high levels of CD16 (CD14+CD16+), similar to the two monocyte subsets previously described in human peripheral blood (Ziegler-Heitbrock H.W., *Immunology Today* 17:424-428 (1996)). For each primate tested, the percentage of monocytes within the CD14+CD16+ subset was determined after each blood draw, on days 1, 3, 7, 14, and 21 after 8.10.3 injection.

[0299] In general, 8.10.3 treatment resulted in a reduction in the percentage of CD14+CD16+ monocytes (see Figures 2A and 2B). Monkeys not receiving 8.10.3 Antibody demonstrated relatively stable CD14+CD16+ monocyte levels. CD14+CD16+ monocytes have been termed "proinflammatory" because they produce higher levels of TNF- α and other inflammatory cytokines (Frankenberger, M.T., *et al.*, *Blood* 87:373-377 (1996)). It has also been reported that the differentiation of monocytes from the conventional CD14++CD16- phenotype to the proinflammatory phenotype is dependent on M-CSF (Saleh M.N., *et al.*, *Blood* 85: 2910-2917 (1995)).

EXAMPLE X

Monkey Treatment and Monocyte Counts

[0300] Three male cynomolgus monkeys per dosage group were intravenously administered vehicle (20 mM Sodium acetate, pH 5.5, 140 mM NaCl), purified antibody 8.10.3F, or purified antibody 9.14.4I at 0, 1, or 5 mg/kg in a dose volume of 3.79 mL/kg over an approximately 5 minute period. The monkeys were 4 to 9 years of age and weighed 6 to 10 kg. Blood samples for clinical laboratory analysis were collected at 2, 4, 8, 15, 23, and 29 days. Monocyte counts were determined by light scatter using an Abbott Diagnostics Inc. Cell Dyn system (Abbott Park, Illinois).

[0301] A decrease in the percentage change in total monocytes at all doses of antibody 8.10.3F and antibody 9.14.4I as compared to pre-test levels of monocytes (Figures 3A and 3B) was observed (see e.g., day 4, 8, 15, and 23 in Figures 3A and 3B).

- 5 [0302] All publications and patent applications cited in this specification are herein incorporated by reference as if each individual publication or patent application were specifically and individually indicated to be incorporated by reference. Although the foregoing invention has been described in some detail by way of illustration and example for purposes of clarity of understanding, it will be
- 10 readily apparent to those of ordinary skill in the art in light of the teachings of this invention that certain changes and modifications may be made thereto without departing from the spirit or scope of the appended claims.

63

1021054000025590

SEQUENCES

Key:

Signal peptide: underlined lower case
CDRs 1,2,3: underlined UPPERCASE
5 Variable domain: UPPERCASE
Constant domain: lower case
Mutations from germline in bold

SEQ ID NO: 1

10 252 Heavy Chain [Gamma chain] nucleotide sequence
atggagttggggctgctctggtttctgttctatataaaagggtgccagtgtCAGGTGCAGCTGGTG
GAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGCAGCCTCTGGATTTCACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCC
GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTTCATACATTAGTGGTA
15 GTGGTAGTACCATACTACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCAT
CTCCAGGGACAACGCCAAGAAGCTCACTGTATCTGCAATGAACAGCCT
GAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATCACTGTGCGAGAGCCCTGGGTGG
GATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTtcca
ccaaggggccatccgtcttccccctggcgccctgctctagaagcactccgagagocagcggccctgggtgctg
20 gtaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtctgtgaactcaggcgctctgaccagcggcggtgcacaccttcc
agctgtctacagtcctcaggactctacttccctcagcagcggtgtgaccgtgccctccagcaacttcgysacccagac
ctacacctgcaacgtagatcacaaagcccagcaacaccaagggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcaggt
gcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagcttctcttccccccaaaacccaaggacacctcatga
totccgggacccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccccagggtccagttcaactggtac
25 gtggacggcggtgagggtgcataatgccaaagacaagccatgggaggagcagttcaacagcaggttccgtgtgtca
gcgtctcaccgtgtgcaaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaagggtctccaaacaaaggcctccca
gccccatcgagaaaaccatctccaaaaccnaagggcagcccgagaaaccacaggtgtacacctgccccatccc
gggaggagatgaccaagaaccagggtcagcctgacctgctgcaaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtgga
gtggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctccatgctggactccgacggctcttcttcc
30 tctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcagaggct
ctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO: 2

252 Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence
melglewifvaihkvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIR
35 QAPGKGLEWISYISGSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE
DTAVYHCARALGGM~~D~~VWGQTTTVTVSSAstkgpsvflapcsrstsstaalgclvkdyfp
epvtvswnsagaltsgvhtfpavlqasglylsavvtvpsanfgtqytcnvdhkpantkvdktverkcceppcp
appvaggpsvflfpkpkdthmiartpvtcvvvdvshdpovqfnwyvdgvevhnaktipreeqfnstfrvvv
ltvvhdwlngkeyckkvankglpapietkisktkgqprepqvylppsrceantknqvaltlvkgyfpediave
40 wcangqpennykthppmldsdgsaffiyakltvdkarwqqgnvfacsvmheallmhytqkslslspgk

SEQ ID NO: 3

252 Light Chain [Kappa chain] nucleotide sequence

atgagggtccctgctcagctcctgggctcctgctactctgctccgaggtgccagatgtGACATCCAGAT
GACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
5 ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCGGCTTTTAAATTGGTATC
AGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTACATCCA
GTTTGCAAAGTGGGGTCCCATTTCAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGA
CAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAAC
TTATTACTGTCAACAGAGTTACAGTGTCCCATTCACITTCGGCCCTGGG
10 ACCAAAGTGGATATCAAACGAactgtgggtgcaccatctgtcttcatcttccgccatctgatgagc
agttgaaatctggaactgctagcgttgtgtgctgtgastaacttctatcccagagaggccaaagtacagtgggaaggt
ggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagaggtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctc
agcagcacctgtacgctgagcaaacgagactacgagaaacacaaagctacgctgcgaagtcacccatcagggcc
tgagctgcccggtcacaagagcttcaacaggggagaggt

15

SEQ ID NO: 4

252 Light Chain [Kappa chain] protein sequence

mrvpaqllelllwlgarcDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTTCRASOSISGFLNWFYQOK
PGKAPKLLIYATSSLOSQVPRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCOOS
20 YSVPFTFGPGTKVDIKRtvaapsvfifppadeqlksgtasvvelhmfypreakvqwkvdnalqsgna
qesvteqdsldstyslsstltiskadyekhkvyacevthqglaspvtksfnrgcc

SEQ ID NO: 5

88 Heavy Chain [Gamma chain] nucleotide sequence

atggaattgggctgtctggttttcttctgtatthagaaggtgtccagtgtGAGGTGCAGCTGGTG
GAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGTAGCTATTGGATGAGCTGGGTCC
GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATAAAGCAA
GATGGAAGTGAGAAATACTATGTGGACTCTGTGAAGGGCGGATTACAC
30 ATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGC
CTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCTCCGGGTATAGCA
GCAGCTGGTAGGGCCTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCC
TCAGCTiccaccaaggggccatccgtcttccccctggcgccctgctctagaagcacctccgagagcacagcggc
cctgggctgocctggtaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtcgtggaactcaggcgctctgaccagcgggc
35 tgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcggtgtgaccgtgccctccagcaacttc
ggcaccagaccttacacctgaacgtatgcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaat
gttgtctgagtgcccaccgtgcccagcaaccctgtggcaggaccgtcagttcttcttcccccaaaacccaagg
acacctcatgatctccggaccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccccaggtcca
gttcaactggtacgtggacggcggtggaggtgcataatgccagacaagccacgggaggagcagttcaacagcacg
40 ttcggtgtggtcagcgtctcaccgttgtcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcagggtctccac
aaaggcctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacc
ctgccccatccgggaggagatgaccaagaaccagggtcagcctgacctgacctgggtcaaggcttctaccccagcg
acatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagacaactacaagaccacaacctccatgttgactccg
acggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgtctcg
45 tgatgatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccggtaaa

SEQ ID NO: 6

88 Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

mfefglcwvflvallogvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYWMSWV
RQAPGKGLEWVANIKODGSEKYYVDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSL
5 RAEDTAVYYCAPGLAAAGRAYWGQGTLVTVSSAstkgpsvfplapcaratscstaalgcl
vkdyfpepvtvswnsгалтsgvhtfpavlgssglyalsvvtvpsanfgtqtytcnvdhkpantkvdktverkecv
ecppcpappvagsvflfpplpkdthmiartpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnakfkpreeqfns
tfrvsvltvvhqdwlngkeykckvankglpapiaktiaktkgpprepqvylppareemtknqvaitclvkgfyp
sdiaveweangqpennyktpmldsdgafllyskitvdkarwqgnvfscsvmhcalhnhytqkslslepdk

10

SEQ ID NO: 7

88 Light Chain [Kappa chain] nucleotide sequence

atgagggtccctgctcagctcctgggactcctgctactctggctccgaggtgccagatgtGACATCCAGAT
GACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTTGGAGACAGAGTCACC
15 ATCACTTGCCGGCCAAGTCAGGACATTAGCAGTTATTTAAATTGGTATC
AGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCA
GTTTGCAAAGTGGGGTCCCATTAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGA
CAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAAC
TTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCATTCACTTTCGGCCCTGGG
20 ACCAAAGTGGATATCAAACGAactgtggtgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagc
agtigaactctggaactgctagcgttgtgtgctgctgaataacttctatccagagaggccaaagtacagtggaaggt
ggataacgcccctccaatcgggtaactcccaggagagtgctcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctc
agcagcaccctgacgctgagcaanagcagactacgagaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcc
tgagctcggccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

25

SEQ ID NO: 8

88 Light Chain [Kappa chain] protein sequence

mrtpaqllglllwlgarcDIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRPSODISSYLNWYQQK
PGKAPKLLIYAASSLSQGVPLRFSGSGSGTDFTLTSSLSQPEDFATYYCQOS
30 YSTPFTFGPGTKVDIKRivaapsvfifppsdeqlksgtasvvcilnnfyreakvqwkvdnalqsgns
qesvteqdskdstyslsslakadyekhkvyacovthqglaspvtkafrgce

SEQ ID NO: 9

100 Heavy Chain [Gamma chain] nucleotide sequence

5 atggagtttgggtccgctggaattttcttggcctattttaaagggtgtccagtgt GAGGTGCAGCTGTTG
GAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCC
GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGGTCTCAGCTATTAGTGGTC
10 GTGGTGGTAGGACATACTTCGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCA
TCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCC
TGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTTCTGTGCGGTAGAAGGCTATA
15 GTGGGCGCTACGGATTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTAGTCAC
CGTCTCCTCAGCCTccaccaaggccctcgggtcttccccctggcgccctgctctagnagcaccitccgag
agcacagcggccctgggtgcttgtaaggactacttccccgaacoggtgacgggtgctgtggaactcaggogctct
gaccagcggcgtgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgoc
20 ctccagcaacttcggcaccagacctacacctgcaacgtgatcacaaagccagcaaacaccaaggtggacaagaca
gtgagcgcnaatgttgtgtcagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagcttctcttcccc
caaaacccaaggacacctcatgatctcccgaccctgaggtcacgtgctgtgtgtggtgacgtgagccacgaaga
ccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacgggaggagca
25 gttcaacagcacgttccgtgtgtcagcgtctcaccgtgtgtcaccaggactggtgaacggcaaggagtacaagt
caaggcttccaacaaggccctccagccccatcgagaaaccatctccaaaccaaagggcagccccgagaacc
acaggtgtacacctgccccatccgggaggagatgaccaagaaccagggtcagcctgacctgctgtcaaaggc
tttaccaccagcgacatcgccgtggagtgaggagagcaatgggcagccggagacaactacaagaccacacctcca
tcttgactccgacggctcttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaaacgtc
ttctcatgtctcgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagccctctcctgtctcgggtaaa

25

SEQ ID NO: 10

100 Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

5 mefglrwiflyailkqvqcEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVR
QAPGKGLEWVSAISGRGGRTYFADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA
30 EDTAVYFCAVEGYSGRYGFEDYWGQGTLVTVSSAstkgnsvfplapcarstsestaal
gclvkdyfpvptvswnagaltsgvhtfpavlgssgiylasvvtvpsnfgtqytctnvdhkpantkvdktverkc
cvecppcpappvagsvflfpkpkdthmistrpevtcvvvdvshedpevqfirwyvdgvevhnaktkpreeqf
nstfirvsvltvvhqdwlngkeykckvankglpapiektiaiktkgpprepqvytlppsreemtknqvaitclvkgf
ypediavewesngqpennykitppmldadgafllyakltvdkarwqqgnvfscsvmhcalhnhytqklsalspg
35 k

SEQ ID NO: 11

100 Light Chain [Kappa chain] nucleotide sequence

atggaagcccccagctcagcttctcttctctctgctactctggctccagataccactggaGAAATAGTGATG
5 ACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAACTTAGCCTGGTACC
AGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGGTGCATCCAC
CAGGGCCAGTGGTATCCCAGACAGGATCAGTGGCAGTGGGTCTGGAAC
AGAGTTCACTCTCATCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGCAGTT
10 TATTACTGTGAGCAGTCTAATAACTGGCCATTACITTCGGCCCTGGGA
CCAAAGTGGATATCAAACGAactgtggctgcaccatctgttctcatcttccggccatctgatgagca
gltgaaatctggaactgctagcgtgtgtgcctgctgaataacttctatccagagaggccaaagtacagtggagggtg
gataacgcccctccaatcgggtaactcccaggagagtgctcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctca
gcagcacctgacgctgagcaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcct
15 gagctcggcgtcacaagagcttcaacaggggagagtg

SEQ ID NO: 12

100 Light Chain [Kappa chain] protein sequence

meapaqlfllllwlpdtgEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASOSVSSNLAWYQQ
20 KPGQAPRLLIYGASTRASGIPDRISGSGSGTEFTLISSSQSEDFAVYYCQOS
NNWPFIFGPGTKVDIKRtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcilmfypreakvqwkvdnalqsgn
aqesvteqdkdstyslsstltiskadyekhkvyacevthqglaspvtksfmgcc

SEQ ID NO: 14

25 3.8.3 Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

mefglwvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI
RQAPGKGLEWFSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLSLQMNSLRA
EDTAVYYCARGLTGDYWGQGLTVTVSSAstkgsavfplapcarstsestaalglvkdyfpe
pvtvswngaltsgvhtfpavlgasglyslasvvtvpasnfgtqytycnvdhkpantkvdktkverkkcecppepa
30 ppvagpsvflfppkpkdtlmiartpevtcvvvdvahedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvsvlt
vvhqdwlngkeykckvsnkgipapiektisktkgqprepqvytlppareemtknqvsltlvkgfypsdiavew
eangqpennykitppmldsdgsfflyskitvdksrwqggnvfscsvmhcalhnhytqkalslspgk

SEQ ID NO: 16

35 3.8.3 Light Chain [Kappa chain] protein sequence

mdmrvaqllgllllwfpagcDIQMTQSPSSVSASVGDRTVISCRAODISGWLAWY
QOKPGKAPKLLISATSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC
QOINSPFIFGPGTKVDIKRtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcilmfypreakvqwkvdnalq
sgnsqesvteqdkdstyslsstltiskadyekhkvyacevthqglaspvtksfmgcc
40

SEQ ID NO: 18

2.7.3 Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

mefglswvflvllrgcqcQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTSSYGMHWV
 5 RQAPGKGLEWVAFIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
 RAEDTAVYYCARGYRVYFDYWGQGTLLTVSSAstkgpsvflapcarstsestaalgc
 vkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqssgiyslssvvtvpsslgfkytcnvdhkpantkvdkrveskygp
 pcpcpapoflggpsvflfpkpkdtlmiartpevtcvvvdvsqcdpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfna
 10 tyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiiektiskakgqprepvytlppsceemtknqvaltclvkgy
 psdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyarltvdksrwqegnvfscsvmhcalhnhytqkalalapgk

SEQ ID NO: 20

2.7.3 Light Chain [Kappa chain] protein sequence

mdmrvpaqlglglllwfpgrcDIQMTQSPSSVSASVGDRVTTCRASODISSWLAWY
 15 QRKPGKAPKLQIYAASSLESGVPSRFNGSGSGTDFTLSSISLQPEDFATYYC
 QOTNSFPLTFGGGTKVEIKRtvaapsvfifppadeqlksgtasvvcilmfypreakvqwkvdnal
 qsgnsqesvteqdkdstyslsstltlskadylekhkvyacevthqglaspvtksfmgcc

SEQ ID NO: 22

20 1.120.1 Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

mewtwfiflvaaatgahsQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWV
 RQAPGQGLEWWMGWISAYNGNTNYAOKLQDRVTMTTDTSTTTAYMELRS
 LRSDDTAVYYCARRAYGANFFDYWGQGTLLTVSSAstkgpsvflapcarstsesta
 lgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqssgiyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpantkvdktverk
 25 ccvecppcpappvagsvflfpkpkdtlmiartpevtcvvvdvshdpevqfnwyvdgvevhnaktkpre
 qfnstfrvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiiektiskakgqprepvytlppsreemtknqvaltclvk
 gfypediavewesngqpennykttppmldadgafllyaktvdksrwqegnvfscsvmhcalhnhytqkalal
 pgk

30

SEQ ID NO: 24

1.120.1 Light Chain [Kappa chain] protein sequence

mvltqvfielllwisgavgDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSOSILFTSNKNLYL
 AWYRQKPGQPPNLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEQVA
 35 VYYCOQYYSSPWTFGQGTKVEIKRtvaapsvfifppadeqlksgtasvvcilmfypreakvq
 wkvdnalqsgnsqesvteqdkdstyslsstltlskadylekhkvyacevthqglaspvtksfmgcc

SEQ ID NO: 25

9.14.4I Heavy Chain [Gamma Chain] nucleotide sequence

5 atgaagtttggcctgagctggctttccctgttctctttataaagggtgCCAGTGTGAGGTGCAGCTG
GTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTC
TCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTATATGAGCTGGA
TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTA
GTAGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCA
10 CCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAAGTCACTGTATCTGCAAATGAACA
GCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCCTAA
CTGGGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTtcc
accaagggcccatccgtcttccccctggcgccctgctctagaagcacctccgagagcacagcggccctgggtgcct
ggtaaggactacttcccgaaaccggtgacgggtgctgtggaactcaggcgctctgaccagcgggtgcacaccttcc
cagctgtctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgcctccagcaacttggcaccaga
15 cctacacctgcaacgtagatcacagcccagcaacaccaagggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcag
tgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagcttcttcccccaaaacccaaggacacctcatg
atctcccgaccctgaggtcacgtgcgtggtgggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactgga
cgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagcaaaagccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtc
agcgtcctcacctgtgtgcaccaggactggctgaacggcgaaggagtacaagtgaagggtctccaacaaggcctccc
20 agcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaggggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcc
cgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaaaggcttctacccagcgacatcgccgtgg
agtgggagagcaatgggcagccggagaaactacangaccacacctcccatgctggactcgcagggctccttcttc
ctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctcgtgatcatgaggc
ctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

25

SEQ ID NO: 26

9.14.4I Heavy Chain [Gamma Chain] protein sequence

5 mefglswvflviiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTESDYYSWI
RQAPGKGLEWVVS^YISSSGSTI^YYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
30 EDTAVYYCARGLTGDYWGQGLVTVSSA^{stkgpavflapcarstsestaalglvkdyfpe}
pvtvswngaltsgvhtfpavllqssglyslssvvtvpsanfgtqytcnvdhkpantkvdktverkecvecppcpa
ppvagpsvflfppkpkdtlmiartpevtcvvvdshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvavlt
vvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavew
35 esngqpennykttppmldsdgafflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhcalhnhytqksalaspk

35

SEQ ID NO: 27

9.14.4, 9.14.4I, 9.14.4-Ser and 9.14.4-G1 Light Chain [Kappa Chain] nucleotide sequence

5 atggacatgagggtcccggtcagctcctggggctcctgctactctggctcggagggtccagatg TGACATCC
AGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTTCGGAGACAGAGT
CACCATCACTTGCCGGCCAAGTCAGATCATTAGCAGTTTATTAAATTGG
TATCAGCAGAAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCCATGCTGCA
10 TCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGTAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGC
AACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCATTTCACTTTTCGGCCCT
GGGACCAAAGTGGATATCAAACGAactgtggctgcacatctgtttcatcttccgcatctga
tgagcagttgaatctggaactgcctctgtgtgtgcctgtgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtga
aggtggataacgccctccaatcgggtactcccaggagagtgacacagagcaggacagcaaggacagcacctaca
15 gcctcagcagcacctgacgctgagcaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatca
gggcctgagctcgccggtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

SEQ ID NO: 28

9.14.4, 9.14.4I, 9.14.4-Ser and 9.14.4-G1 Light Chain [Kappa Chain] protein sequence

20 mdmrvpagllgllllwlrgrcDIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRPSQHSSLLNWFYQ
QKPGKAPKLLIHAASSLOSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQ
QSYSTPFTFGPGTKVDIKRtvaapsvfifppadeqlksgtasvvelnnfypreakvqwkvdnalqa
gnsqesvteqdsakdstylsstltlakadyekhkvyacevthqglsspvtkafurged
25

9.14.4 Heavy Chain [Gamma Chain] nucleotide sequence

5
10

9.14.4 Heavy Chain [Gamma Chain] protein sequence

30

9.14.4C-Ser Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

40

SEQ ID NO: 56

9.14.4C-Ser, 9.14.4-CG2 and 9.14.4-CG4 Light Chain [Kappa chain] protein sequence

5 mdmrvpsalllglllwlgarcDIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRFSOISSLLNWFYQ
 QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ
 QSYSTPFTFGPGTKVDIKRtvaaspsvfifpsdeqlksgtasvvcilhnfybreakvqwkvdnalqs
 gnaqesvteqdakdstyslastitiskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

10 SEQ ID NO: 74

9.14.4-CG2 Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI
 RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA
 EDTAVYYCARGLTGDYWGQGTLLTVSSAastkgpsvfplapcarstsestaalgclvkdyfpe
 15 pvtvswngaltsgvhtfpavlqssglyslasvvtvpsanfgtqitytcnvdhkpantkvdktverkccecpccpa
 ppvagpsvfifppkpkdtlmiartpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktipreeqfnstfrvsvlt
 vvhdwlngkeyckkvankglpapiektiaktkgpprepqvyltpareemtknqvslclvkgfypsdiavew
 eangqpennykitppmldsdgsfflyakltvdkarwqqgnvfscsvmhcalhnhytqkslsapgk

20 SEQ ID NO: 78

9.14.4-CG4 Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI
 RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA
 EDTAVYYCARGLTGDYWGQGTLLTVSSAastkgpsvfplapcarstsestaalgclvkdyfpe
 25 pvtvswngaltsgvhtfpavlqssglyslasvvtvpsanfgtqitytcnvdhkpantkvdktverksygpccpcpa
 peflgpsvfifppkpkdtlmiartpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktipreeqfnstfrvsvlt
 tvlhdwlngkeyckkvankglpsaiektiaktkgpprepqvyltpaqeemtknqvslclvkgfypsdiave
 weangqpennykitppvldsdgsfflyarltvdkarwqegnvfscsvmhcalhnhytqkslsapgk

30 SEQ ID NO: 82

9.14.4-Ser Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI
 RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA
 EDTAVYYCARGLTGDYWGQGTLLTVSSAastkgpsvfplapcarstsestaalgclvkdyfpe
 35 pvtvswngaltsgvhtfpavlqssglyslasvvtvpsanfgtqitytcnvdhkpantkvdktverksygpccpcpa
 peflgpsvfifppkpkdtlmiartpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktipreeqfnstfrvsvlt
 tvlhdwlngkeyckkvankglpsaiektiaktkgpprepqvyltpaqeemtknqvslclvkgfypsdiave
 weangqpennykitppvldsdgsfflyarltvdkarwqegnvfscsvmhcalhnhytqkslsapgk

40

9.14.4G1 Heavy chain (gamma chain) nucleotide sequence

25 SEQ ID NO 102

mefelswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI
RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
EDTAVYYCARGLTGDYWGQGLVTVSSAstkgpsvfplapsaktsqgtaalglvkdyfp
 epvtvawnsгалtagvhtfpavlqssglyalsvvtvpssalgtqiyicnvnhkpanikvdikvepkscdkthtcpp
 cpapellggpsvflfppkpkdtlmiartpovtcvvvdvahedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrv
 vsvltlvhdwlngkeykckvankalpapielktiaakagqprepqvytlppardeltknqvaltcvlvkgfypsadia
 veweanegqpemnykttppvldsdgafflyakltvdkarwqqgnvfscsvmhcalnhnhtqkalslspgk

35

SEQ ID NO: 29

8.10.3 and 8.10.3F Heavy Chain [Gamma chain] nucleotide sequence

5 atggaattggagctgtgctgggtttccctgttgccttttagaagggtgccagtGAGGTGCAGCTGGTG
GAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGTITTAGTATGACCTGGGTCC
GCCAGGCTCCAGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTA
10 GAAGTAGTACCATATCCTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCA
TCTCCAGAGACAATGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCC
TGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATCCTCTTCT
AGCGGGAGCTACCTTCTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC
CGTCTCCTCAGCCtcaccaagggccctcgggtcttccctcggcgccctgtccaggagcacctccgag
agcacagcggccctgggtgctggtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgctgtggaactcaggcgctct
gaccagcggcgtgcacaccttccagctgtcctacagtctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgcc
15 ctccagcaacttcggcaccagacctacacctgaacgtatcacaaagccagcaacaccaagggtggaacaagaca
gttgagcggcaaatgtgtgtgagtgccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagttctctcttcccc
caaaacccaaggacacctcatgatctccgggacctgtgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccacgaaga
ccccgaggtccagttcaactgttacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagacaagccacgggaggagca
gttcaacagcagcttccgtgtgtcagcgtcctcaccgtgtgcaccagactggctgaacggcaaggagtacaagt
20 caaggcttccaacaaggcctcccgcccccctcagaaaaaccatctccaaaaccaaaggccagccccgagaacc
acaggtgtacacctgccccatccccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgtcaaaggc
ttctacccagcgcacatcgccgtggagtgaggagacnaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctcca
tgctggactccgacggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtc
ttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcctgtctccgggtaaa

25

SEQ ID NO: 30

8.10.3 and 8.10.3F Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

melglcwvflvailegvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSFSMTWV
RQAPGKGLEWVSYISSRSSTISYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRD
30 EDTAVYYCARDPLLAGATTFDYWGQGLVTVSSAstkqpsvflapcarstaeaalg
clvkdyfpepvtvawnsgaltsgvhtfpavlaaglyalsvvtvpasnfgtqytcnvdhkpantkvdktverkcc
vecppcpappvagsvflfpkpkdtimiarpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfn
stfrvsvltvvhqdwlngkeykckvankglpapiektisktkgqprepqvylppareamtknqvsltlvkgy
psdiaveweanqpennykitppmldedgaafflyaktvdkarwqqgnvfscavmhcalhnhytqkalslspgk
35

68
69

SEQ ID NO: 31

8.10.3FG1 and 8.10.3F Light Chain [Kappa chain] nucleotide sequence

5 atggaaccccagccagcttcttctctctgctactctgctcccagataccaccggaGAATTTGTGTTG
ACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCC
TCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGTTACTTAGCCTGGTA
CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCC
AGCAGGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGG
ACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG
10 TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCTCTCACTTTTCGGCGGAGG
GACCAAGGTGGAGATCAAACGAactgtggctgcaccatctgtcttcattctcccgccatctgatga
gcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggag
gtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgctcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcc
tcagcagcacctgacgctgagcaagcagactacgagaaacacaaagtctacgctgcgaagtcacccatcaggg
15 cctgagctcggccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

SEQ ID NO: 32

8.10.3FG1 and 8.10.3F Light Chain [Kappa chain] protein sequence

20 metpaqlflfllwlpdttgEFVLTQSPGTLSPGHERATLSCRASOSVSSSYLAWYQQ
KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQ
YGSSPLTFGGGTKVEIKRtvaapsvfifppadeqlksgtasvvcilnnfybreakqvkwkdnlqsg
nqesvteqdkdstyslsltlakadyekhkvyacevthqglsspvtkafnrgcc

SEQ ID NO: 43

25 8.10.3 and 8.10.3-Ser Light Chain [Kappa chain] nucleotide sequence

atggaaccccagccagcttcttctctctgctactctgctcccagataccaccggaGAATTTGTGTTG
ACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCC
TCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGTTACTTAGCCTGGTA
30 AGCAGGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGG
ACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGTAG
TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCTCTCACTTTTCGGCGGAGG
GACCAAGGTGGAGATCAAACGAactgtggctgcaccatctgtcttcattctcccgccatctgatga
gcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggag
35 gtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgctcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcc
tcagcagcacctgacgctgagcaagcagactacgagaaacacaaagtctacgctgcgaagtcacccatcaggg
cctgagctcggccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

SEQ ID NO: 44

40 8.10.3 and 8.10.3-Ser Light Chain [Kappa chain] protein sequence

metpaqlflfllwlpdttgEFVLTQSPGTLSPGHERATLSCRASOSVSSSYLAWYQQ
KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFVYYCQQ
YGSSPLTFGGGTKVEIKRtvaapsvfifppadeqlksgtasvvcilnnfybreakqvkwkdnlqsg
nqesvteqdkdstyslsltlakadyekhkvyacevthqglsspvtkafnrgcc
45

SEQ ID NO: 58

8.10.3C-Ser Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

5 melglcwvflvailegvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFSMTWV
 RQAPGKGLEWVSYISSRSSTISYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRD
 EDTAVYYCARDPLLAGATFFDYWGQGTLVTVSSAstkgpsvflapcarstsestaalg
 clvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqssglylasvvtvpsslgfkytcnvdhkpantkvdkrveskyg
 ppcppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmiartpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqf
 10 nstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvankglpsiektiskakgqprepvytlppsqeemtknqvslclvkgf
 ypsdiavewesngqpennykttppvldsdgafflyarltvdksrwqegnvfscsvmhcalhnhytqkslsispkg

SEQ ID NO: 60

8.10.3-CG2, 8.10.3-CG4 and 8.10.3C-Ser Light Chain [kappa chain] protein sequence

15 metpaqlflllwhpdttgEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASOSVSSSYLAWYQQ
 KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCOQ
 YGSSPLTFGGGTKVEIKRtvaapsvflfppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalqsg
 naqesvteqdaakdstyslsstltiskadyekhkvyacevthqglaspviksfurges

SEQ ID NO: 62

8.10.3-CG2 Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

20 melglcwvflvailegvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFSMTWV
 RQAPGKGLEWVSYISSRSSTISYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRD
 EDTAVYYCARDPLLAGATFFDYWGQGTLVTVSSAstkgpsvflapcarstsestaalg
 clvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqssglylasvvtvpasnfgtqytytcnvdhkpantkvdktverccc
 25 vecppcpappvagsvflfppkpkdtlmiartpevtcvvvdvshdpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfn
 stfrvsvltvlhqdwlngkeykckvankglpapietkiskakgqprepvytlppsreemtknqvslclvkgfy
 psdiavewesngqpennykttppmldsdgafflyskltvdksrwqegnvfscsvmhcalhnhytqkslsispkg

SEQ ID NO: 90

8.10.3-Ser Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

30 melglcwvflvailegvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFSMTWV
 RQAPGKGLEWVSYISSRSSTISYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRD
 EDTAVYYCARDPLLAGATFFDYWGQGTLVTVSSAstkgpsvflapcarstsestaalg
 clvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqssglylasvvtvpssalgfkytcnvdhkpantkvdkrveskyg
 35 ppcppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmiartpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqf
 nstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvankglpsiektiskakgqprepvytlppsqeemtknqvslclvkgf
 ypsdiavewesngqpennykttppvldsdgafflyarltvdksrwqegnvfscsvmhcalhnhytqkslsispkg

SEQ ID NO: 94

8.10.3-CG4 Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

melglcwvflvailegvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFSMTWV
5 RQAPGKGLEWVSYISSRSSTISYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRD
EDTAVYYCARDPLLAGATFFDYWGQGLVTVSSAstkgpsvflapcarstsestaalg
clvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqasglyalsvvtvpssalgtktytcnvdhkpantkvdkrveskyg
ppcpapapellggpsvflfpkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqgedpevqfnwyvdgvevhnaktikpreeqf
nstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiaktiskakgqprepvytlppsqaemtknqvslclvkglf
10 ypsdiavoweangqpennyktpvldsdgafflyarltvdksrwqegnvfcsvmhcalhnhytqkalslspgk

SEQ ID NO: 97

8.10.3FG1 Heavy Chain nucleotide sequence

atggagttgggctgagctgggtttccctgttctatataaaaggtgtccaggtGAGGTGCAGCTGGTG
15 GAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGTTTTAGTATGACCTGGGTCC
GCCAGGCTCCAGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTA
GAAGTAGTACCATATCCTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCA
TCTCCAGAGACAATGCCAAGAAGTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCC
20 TGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATCCTCTTCT
AGCGGGAGCTACCTTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC
CGTCTCCTCAGCCtccaccaagggcccatcgggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctggg
ggcacagcggccctgggctgcttggtaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtcgtggaactcaggcgccc
tgaccagcggcggtgcacaccttccgggtgtcctacagtcctcaggactctactcctcagcagcggtggtgaccgtgc
25 cctcagcagcttgggcacccagacctacatctgcacagtgtaacacagcccagcaacaccaagggtggacaagaa
agtgagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagt
cttctcttcccccaaaacccaaggacacccctcatgatctcccgaccctgagggtcacatgctgtggtggtggacgtg
agccacgaagaccctgaggtcaagticaactggtaacgtggagcggcggtggaggtgcataatgccaaagcaaaagccgc
gggaggagcagtaacacagcagctaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcacoaggactggctgaatggcaa
30 ggagtacaagtgcagggttcccaaaaagccctccagcccccctcagaaaaccatctccaaagccaaagggcag
ccccgagaaccacagggtgtacacctgcccccctccgggatgagctgaccaagaaccagggtgacctgacctgcc
tggtaaaaggcttctatccagcgacatcgccgtggagtgaggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagac
cacgctcctccgtgctggactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagca
gggaacgtctctcatgctccgtgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcctgtctccg
35 ggtaaatag

SEQ ID NO: 98

8.10.3FG1 Heavy chain (gamma chain) protein sequence

melglcwvflvailegvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFSMTWV
40 RQAPGKGLEWVSYISSRSSTISYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRD
EDTAVYYCARDPLLAGATFFDYWGQGLVTVSSAstkgpsvflapsakstsggtaal
gclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqasglyalsvvtvpssalgtqtyicnvhkpantkvdkkvepk
scdkthtppcpapellggpsvflfpkpkdtlmisrtpevtcvvvdvabedpevkfnwyvdgvevhnaktikpr
eeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvankalpapiektiskakgqprepvytlppardeltknqvslclv
45 kgfypsdiavoweangqpennyktpvldsdgafflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhcalhnhytqksls
pgk

SEQ ID NO: 33

9.7.2IF Heavy Chain [Gamma chain] nucleotide sequence

atggaatttggcctgagctgggttttctgttgctattataaaaggtgtccagtgtcAGGTGCAGCTGGTG
 GAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCC
 5 TGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGA~~CTACTACATGAGCTGGATCC~~
 GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTA
 GTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCAT
 CTCCAGGGACAACGCCAAGAATTCAGTGTATCTGCAAATGAACAGCCT
 GAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGGGCGTATAGGAGG
 10 TATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTtcca
 ccaagggtccatccgtcttccccctggcgccctgctctagaagcaccctccgagagcacagcggccctgggtgacctg
 gtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtgtggaactcaggcgctctgaccagcggcgtgcacaccttccc
 agctgtctacagctctcaggactctacttccctcagcagcgtggtgacctgccccccagcaacttcggcaccacagac
 ctacacctgcaacgtagatcacaaagccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcaggt
 15 gcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggacctgacttcttcttccccccaaaacccaaggacacctcatga
 tctcccgaccctgaggtcacgtgcgtggtgtggacgtgagccacgaagacccccgaggtccagttcaactggtac
 gtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagacaagccacgggaggagcagttcaacagcaggttccgtgtgtgca
 ggcgtctcaccgttgtcaccaggactggctgaacgggaaggagtlacaagtgaagggttccaacaaaggcctccca
 gccccatcgcagaaaaccatctccaaaaccaaggggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccc
 20 gggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgggtcaagggttctacccccagcagatcggcgtgga
 gtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttctcc
 tctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgttcttctcatgctcgtgatgcatgaggct
 ctgcacaaccactacacgcagaagagccttccctgtctccgggtaaa

25 SEQ ID NO: 34

9.7.2IF Heavy Chain [Gamma Chain] protein sequence

m~~efglswvflvsiikgvqc~~QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI
 RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
 EDTAVYYCARRIGGMDVWGQGT~~TVTVSS~~Astkgpsvflapcrrstaestaalglvkdyf
 30 pepvtvswnsaltsgvhtfpavlqasglyalsavvtvpasnfgtqytyrvdhkpantkvdktkvercccveppc
 pappvagpsvflfpkpkdtlmisrtpevtcvvvdvahedpevqfnwyvdgvevhmaktkpreeqfnstfrvvs
 vltvvhqdwlngkeykckvankglpapiektiaikgqproppvytlppsreemtknqvahclvkgfypsdiav
 ewesngqpennyktpmldsdgafflyskltvdkarwqggnvfacsvmhealhnhytqklsalaspk

35 SEQ ID NO: 35

9.7.2IF Light Chain [Kappa chain] nucleotide sequence

atggacatgaggttccccgctcagctcctggggctcctgctactctggctccgaggtgccagatgtGACATCC
 AGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT
 CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCGGCTTTTAAATTGG
 40 TATCAGCAGAGACCAGGGAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTACA
 TCCAGTTTACAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTG
 GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGC
 AACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCATTCCTTTTCGGCCCT
 GGGACCAAAGTGGATATCAAACGAactgtggctgcaccatctgttctcatcttccogccatctga
 45 tgagcagttgaatctggaactgcctctgttgtgtgctgctgaataacttctatccagagagggccaaggtacagtgga
 aggtggataacgccctccatcgggttaactccaggagaggtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctaca
 gcctcagcagcaccctgacgtgagcaagcagactacgagaacacaaaagtctacgcctgcgaagtcacccatca
 ggcctgagctcggcgtcacaaagagttcaacaggggagaggtgt

20
71

SEQ ID NO: 36

9.7.2IF Light Chain [Kappa chain] protein sequence

5 mdmrvpagllglllwlrgrcDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASOSISGFLIWYQ
QRPGKAPKLLIYATSSLOSQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ
QSYSTPFTFGPGTKVDIKRtvaapsvfifppadeqlksgtasvcllmfypreakvqwkvdnals
gnsqesvteqdaakdstyalastflakadyekhkvyacevthqglsspvtksfmgcc

SEQ ID NO: 45

10 9.7.2 Heavy Chain [Gamma chain] nucleotide sequence

gaggagttgggctgagctgggttttcttcttcttattataaaaggtgtccagtcAGGTGCAGCTGGTG
GAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTCAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCC
GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTA
15 GTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCAT
CTCCAGGGACAACGCCAAGAATTEACTGTATCTGCAAATGAACAGCCT
GAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGGCGTATAGGAGG
TATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTtcca
ccaaggcccatccgtcttccccctggcgccctgctctagaagcaccctccgagagcacagcgccctgggctgcctg
20 gtcaaggactacttccccgaaccggtgacgggtgctgtgaactcagggcctctgaccagcgccgtgcacaccttccc
agctgtctctacagtcctcaggactctactccctcagcagcggtggtgaccgtgcccctcagcagcttgggcacgaagac
ctacacctgcaacgtatgacacaagcccagcaacaccaagggtggacaagagagttgagtcacaatatggtccccat
gcccacatgcccagcactgagttcctgggggaccatcagttcttctgttcccccaaaacccaaggacacttcat
gatctcccgaccctgaggtcacgtgctggtggtggtgacgtgagccaggaagaccccaggtccagtcaactggt
25 acgtggatggcgtggagggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggt
cagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaacggcgaaggagtacaagtgcagggtctccaacaaggcctc
ccgtctccatcagaaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacacctgccccat
cccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggicaaaggcttctaccccagcgacatcgccgt
ggagtgggagagcanigggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccggtgctggactccgacggctcctc
30 tictctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgoatgag
gotctgcacaaccactacacacagaagagccctctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO: 46

9.7.2 Heavy Chain [Gamma Chain] protein sequence

35 mefglawylfvaikgygcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWI
RQAPGKGLEWVSYSISSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA
EDTAVYYCARRIGGMDVWGQGTITVTVSSAstkgpsvfplapcarrstsestaalgclvkdyf
pepvivswnsagltsgvhtfpavlaaglyalsvvtvpssalgiktytcnvdhkpstikvdkrveskygppcpse
papeflggpsvflfppkpkdthmarptevtccvvdvaqedpevqfnwyvdgvevhnaktikpreeqfnstyrvv
40 svltvlhqdwlngkeykckvsnkgipssiiektiakakgqprepqvytlppsqaemtlnqvaltlvkgfypsia
veweangqpennyktippvldsdgafflyarltvdkarwqegnvfscsvmhcalhnhytqkalalspgk

SEQ ID NO: 47

9.7.2 and 9.7.2-Ser Light Chain [Kappa chain] nucleotide sequence

5 atggacatgaggtccccgctcagctcctgggctcctgctactctgctccgaggtccagatgtGACATCC
 AGATGACCCAGTCTCCATCCTCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT
 CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCGGCTTTTAAATTG
 TATCAGCAGAGACCAGGGAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTACA
 TCCAGTTTACAAAGTGGGGTCCCATTAAGGTTCAAGTGGCAGTGAATCTG
 10 GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGC
 AACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCATTCACCTTTCGGCCCT
 GGGACCAAAGTGGATATCAAACGAactgtggctgcaccatctgtcttcattctccgccatctga
 tggcagttgaaatctggaactgctctgtgtgtgctgtgaataacttctatccagagaggccaagtacagtga
 aggtggataacgccctccaatcgggtaactccaggagaggtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctaca
 gctcagcagcacctgacgctgagcaagcagactacgagaaacacaaagtctacgctgcgaagtcacccatca
 15 gggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagaggtgt

SEQ ID NO: 48

9.7.2 and 9.7.2-Ser Light Chain [Kappa chain] protein sequence

20 mdmrvpagllgllllwlrgrcDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASOSISGFLIWYQ
 QRP GKAPKLLIYATSSLOS GVP LRFSGS ESGTDFTLTIS SLPEDFATYYCQ
 QSYSTPFTFGPGTKVDIKRtvaapsvfifppadeqlksgtasvvc lnnfypr eakvqwkvdnalqs
 gnsqesvteq dskd stysl stitlakadyek hkv yacev thqg laspvtk sfnrgec

SEQ ID NO: 50

25 9.7.2C-Ser Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

mefglswvflvaihkevgqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWI
 RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA
 EDTAVYYCAIRIGGM DVWGQGTITVTVSSAastkgs v fplapcarstsestaal gclvkdyfp
 epvtvawns gal tagvhtfpav lqssglyalasvvtvpasalgiktytcnvdhkpentkvdkrveakypgpccppcp
 30 a p e f l g g p s v f l f p p k p d t i m i a r t p e v t c v v d v a s q e d p e v q f n w y v d g v e v h n a k t k p r e e q f n s t y r v v a
 v l t v l h q d w i n g k e y k c k v a n k g l p a s i e k t i a k a g p p r e p q v y t l p p s q e e m t k n q v s l t c l v k g f y p e d i a v
 e w e n g q p e n n y k t t p p v l d s d g a f f l y s r i t v d k a r w q e g n v f c s v m h e a l h m h y t q k s l s l s p g k

SEQ ID NO: 52

35 9.7.2C-Ser, 9.7.2-CG2 and 9.7.2-CG4 Light Chain [Kappa chain] protein sequence

mdmrvpagllgllllwlrgrcDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASOSISGFLIWYQ
 QKPGKAPKLLIYATSSLOS GVP SRFS GSGSGTDFTLTIS SLPEDFATYYCQ
 QSYSTPFTFGPGTKVDIKRtvaapsvfifppadeqlksgtasvvc lnnfypr eakvqwkvdnalqs
 40 gnsqesvteq d a k d s t y s l s t i t l a k a d y e k h k v y a c e v t h q g l a s p v t k s f n r g e c

What is claimed is:

1. A human monoclonal antibody or an antigen-binding portion thereof that specifically binds to M-CSF.
2. The human monoclonal antibody or antigen-binding portion according to claim 1, wherein said antibody or portion possesses at least one of the following properties:
 - a) binds to human secreted isoforms of M-CSF and membrane bound isoforms of M-CSF;
 - b) has a selectivity for M-CSF that is at least 100 times greater than its selectivity for GM-CSF or G-CSF;
 - c) binds to M-CSF with a K_D of 1.0×10^{-7} M or less;
 - d) has an off rate (k_{off}) for M-CSF of $2.0 \times 10^{-4} s^{-1}$ or smaller; or
 - e) binds human M-CSF in the presence of human *c-fms*.
3. The human monoclonal antibody or portion according to claim 2, wherein said antibody or fragment blocks binding to *c-fms* and binds M-CSF with a K_D of 1.0×10^{-7} M or less.
4. A human monoclonal antibody 8.10.3F or an antigen-binding portion thereof that specifically binds to M-CSF.
5. A human monoclonal antibody 9.14.4I or an antigen-binding portion thereof that specifically binds to M-CSF.
6. A humanized, chimeric or human monoclonal antibody or antigen-binding portion thereof that binds specifically to and inhibits human M-CSF, wherein the antibody or portion thereof has at least one property selected from the group consisting of:
 - a) cross-competes for binding to M-CSF with an antibody selected from the group consisting of: antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-

ESTA PARTE NO Traducida.

GACAS

SEQ ID NO: 66

9.7.2-CG2 Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI
 5 RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
 EDTAVYYCAIRIGGMDVWGQGTITVTVSSAstkgpsvflapcarstsestaalgclvkdyfp
 epvtvswngaltsgvhtfpavlgssglyslssvvtvpssnfgtqytcnvdhkpantkvdktverkcceppcp
 appvagpsvflfppkpkdtlmiartpevtcvvvdvahedpevqfnwyvdgvevhnaktipreeqfnstfrvsv
 ltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapietisktkgqprepvytlppareemtknqvsltlvkgfypediave
 10 weangqpennyktpmldsdgsfflyskltvdksrwqggnvfscsvmhcalhnhytqkslslspgk

SEQ ID NO: 70

9.7.2-CG4 Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI
 15 RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
 EDTAVYYCARIGGMDVWGQGTITVTVSSAstkgpsvflapcarstsestaalgclvkdyfp
 epvtvswngaltsgvhtfpavlgssglyslssvvtvpssalgktqytcnvdhkpantkvdkrveskygppcp
 apcflggpsvflfppkpkdtlmiartpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktipreeqfnstfrvsv
 vltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiectiskakgqprepvytlppaqeemtknqvsltlvkgfypediav
 20 eweangqpennyktpvldsdgsfflyarltvdksrwqeggnvfscsvmhcalhnhytqkslslspgk

SEQ ID NO: 86

9.7.2-Ser Heavy Chain [Gamma chain] protein sequence

mefglswvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI
 25 RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
 EDTAVYYCARRIGGMDVWGQGTITVTVSSAstkgpsvflapcarstsestaalgclvkdyf
 pepvtvswngaltsgvhtfpavlgssglyslssvvtvpssalgktqytcnvdhkpantkvdkrveskygppcp
 papcflggpsvflfppkpkdtlmiartpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktipreeqfnstfrvsv
 svltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiectiskakgqprepvytlppaqeemtknqvsltlvkgfypedia
 30 veweangqpennyktpvldsdgsfflyarltvdksrwqeggnvfscsvmhcalhnhytqkslslspgk

Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1;

b) competes for binding to M-CSF with an antibody selected from the group consisting of: 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1;

c) binds to the same epitope of M-CSF as an antibody selected from the group consisting of: antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1;

d) binds to M-CSF with substantially the same K_D as an antibody selected from the group consisting of: antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1; and

e) binds to M-CSF with substantially the same off rate as an antibody selected from the group consisting of: antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1.

7. A monoclonal antibody that specifically binds M-CSF, wherein the antibody is selected from the group consisting of:

a) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 2 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 4, without the signal sequences;

b) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 6 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 8, without the signal sequences;

- c) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 10 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 12, without the signal sequences;
- d) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 14 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 16, without the signal sequences;
- e) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 18 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 20, without the signal sequences;
- f) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 22 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 24, without the signal sequences;
- g) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 26 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 28, without the signal sequences;
- h) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 38 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 28, without the signal sequences;
- i) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 54 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 56, without the signal sequences;
- j) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 74 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 56, without the signal sequences;
- k) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 78 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 56, without the signal sequences;
- l) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 82 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 28, without the signal sequences;

m) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 102 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 28, without the signal sequences;

n) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 30 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 32, without the signal sequences;

o) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 30 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 44, without the signal sequences;

p) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 58 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 60, without the signal sequences;

q) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 62 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 60, without the signal sequences;

r) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 90 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 44, without the signal sequences;

s) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 94 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 60, without the signal sequences;

t) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 98 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 32, without the signal sequences;

u) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 34 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 36, without the signal sequences;

v) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 46 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 48, without the signal sequences;

w) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 50 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 52, without the signal sequences;

x) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 66 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 52, without the signal sequences;

y) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 70 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 52, without the signal sequences; and

z) an antibody comprising the heavy chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 86 and the light chain amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 48, without the signal sequences.

8. The human monoclonal antibody or an antigen-binding portion thereof according to claim 1, wherein said antibody or antigen-binding portion comprises:

a) a heavy chain CDR1, CDR2 and CDR3 independently selected from the heavy chain of an antibody selected from the group consisting of: monoclonal antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1; or

b) a light chain CDR1, CDR2 and CDR3 independently selected from the light chain of an antibody selected from the group consisting of: monoclonal antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1.

9. A monoclonal antibody or an antigen-binding portion thereof that specifically binds M-CSF, wherein:

75

a) the heavy chain comprises the heavy chain CDR1, CDR2 and CDR3 of an antibody selected from the group consisting of: antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1;

b) the light chain comprises the heavy chain CDR1, CDR2 and CDR3 of an antibody selected from the group consisting of: antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1;

c) the antibody comprises a heavy chain of (a) and a light chain of (b); or

d) the antibody of (c) wherein the heavy chain and light chain CDR amino acid sequences are selected from the same antibody.

10. A monoclonal antibody or an antigen-binding portion thereof that specifically binds M-CSF, wherein the antibody comprises:

a) a heavy chain comprising the amino acid sequence from the beginning of the CDR1 through the end of the CDR3 of the heavy chain of an antibody selected from the group consisting of: antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1;

b) a light chain comprising the amino acid sequence from the beginning of the CDR1 through the end of the CDR3 of an antibody selected from the group consisting of: antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1;

c) the heavy chain of (a) and the light chain of (b); or

d) the heavy chain of (a) and the light chain of (b) amino acid sequences are selected from the same antibody.

11. The monoclonal antibody or antigen-binding portion according to claim 10 wherein said monoclonal antibody or portion comprises:

a) the heavy chain variable domain (VH) amino acid sequence, without a signal sequence, of an antibody selected from the group consisting of: antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1;

b) the light chain variable domain (VL) amino acid sequence, without a signal sequence, of an antibody selected from the group consisting of: antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1;

c) the VH amino acid sequence of (a) and the VL amino acid sequence of (b); or

d) the VH amino acid sequence of (a) and the VL amino acid sequence of (b), wherein the VH and VL are from the same antibody.

12. A polypeptide selected from the group consisting of:

a) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 2, without the signal sequence;

b) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 6, without the signal sequence;

c) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 10, without the signal sequence;

d) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 14, without the signal sequence;

e) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 18, without the signal sequence;

- f) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 22, without the signal sequence;
- g) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 26, without the signal sequence;
- h) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 30, without the signal sequence;
- i) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 34, without the signal sequence;
- j) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 38, without the signal sequence;
- k) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 46, without the signal sequence;
- l) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 50, without the signal sequence;
- m) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 54, without the signal sequence;
- n) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 58, without the signal sequence;
- o) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 62, without the signal sequence;
- p) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 66, without the signal sequence;
- q) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 70, without the signal sequence;
- r) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 74, without the signal sequence;
- s) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 78, without the signal sequence;
- t) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 82, without the signal sequence;
- u) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 86, without the signal sequence;

- v) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 90, without the signal sequence;
- w) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 94, without the signal sequence;
- x) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 98, without the signal sequence; and
- y) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 102, without the signal sequence.

13. The polypeptide according to claim 12 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 30, without the signal sequence.

14. The polypeptide according to claim 12 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 26, without the signal sequence.

15. A polypeptide selected from the group consisting of:

- a) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 4, without the signal sequence;
- b) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 8, without the signal sequence;
- c) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 12, without the signal sequence;
- d) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 16, without the signal sequence;
- e) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 20, without the signal sequence;
- f) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 24, without the signal sequence;
- g) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 28, without the signal sequence;
- h) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 32, without the signal sequence;
- i) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 36, without the signal sequence;

j) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 44, without the signal sequence;

k) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 48, without the signal sequence;

l) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 52, without the signal sequence;

m) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 56, without the signal sequence; and

n) a polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 60, without the signal sequence.

16. The polypeptide according to claim 15 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 32, without the signal sequence.

17. The polypeptide according to claim 15 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 28, without the signal sequence.

18. A monoclonal antibody or an antigen-binding portion thereof that specifically binds M-CSF, wherein said antibody or antigen-binding portion comprises one or more of an FR1, FR2, FR3 or F4' amino acid sequence of an antibody selected from the group consisting of: antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1.

19. The human monoclonal antibody according to claim 1, wherein the antibody comprises:

a) a heavy chain amino acid sequence that is at least 90% identical to the heavy chain amino acid sequence of monoclonal antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1, without the signal sequence;

b) a light chain amino acid sequence that is at least 90% identical to the light chain amino acid sequence of monoclonal antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1, without the signal sequence; or

c) the heavy chain amino acid sequence of (a) and the light chain amino acid sequence of (b).

20. The monoclonal antibody or antigen-binding portion according to any one of claims 1-19, wherein the C-terminal lysine of the heavy chain of said antibody or antigen-binding portion is not present.

21. A pharmaceutical composition, comprising the antibody or antigen-binding portion according to any one of claims 1-20 and a pharmaceutically acceptable carrier.

22. The pharmaceutical composition of claim 21 wherein the antibody is monoclonal anti-M-CSF antibody 9.14.4I or 8.10.3F.

23. A method for treating a condition selected from the group consisting of arthritis, psoriatic arthritis, ankylosing spondylitis, Reiter's syndrome, rheumatoid arthritis, gout, traumatic arthritis, rubella arthritis and acute synovitis and other arthritic conditions, sepsis, septic shock, endotoxic shock, gram negative sepsis, toxic shock syndrome, Alzheimer's disease, stroke, neurotrauma, asthma, adult respiratory distress syndrome, cerebral malaria, chronic pulmonary inflammatory disease, silicosis, pulmonary sarcoidosis, bone resorption disease, osteoporosis, restenosis, cardiac and renal reperfusion injury, thrombosis, glomerulonephritis, diabetes, graft vs. host reaction, allograft rejection, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, ulcerative colitis, multiple sclerosis, muscle degeneration, eczema, contact dermatitis, psoriasis, sunburn and conjunctivitis shock in a subject, including a human, comprising the step of administering to said subject in need thereof a therapeutically effective amount of the antibody or antigen-binding portion thereof according to any one of claims 1-

20 or the pharmaceutical composition according to any one of claims 21-22, wherein said antibody or portion inhibits M-CSF.

24. The method of claim 23 wherein the condition is rheumatoid arthritis.

25. The method of claim 23 or 24 wherein the antibody utilized is monoclonal anti-M-CSF antibody 8.10.3F or 9.14.4I.

26. A method for treating a solid tumor such as a sarcoma, a carcinoma or a lymphoma in a subject, including a human, comprising the step of administering to said subject the antibody or antigen-binding portion thereof according to any one of claims 1-20 or the pharmaceutical composition according to any one of claims 21-22, wherein said antibody or antigen-binding portion inhibits M-CSF binding to *c-fms*.

27. An isolated cell line that produces the antibody or antigen-binding portion thereof according to any one of claims 1-20 or the heavy chain or light chain of said antibody or said antigen-binding portions thereof.

28. The cell line according to claim 27 that produces an antibody selected from the group consisting of: antibody 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 and 9.14.4G1 and an antibody that has the same amino acid sequence as one of the foregoing antibodies.

29. An isolated nucleic acid molecule comprising a nucleotide sequence that encodes the heavy chain or an antigen-binding portion thereof or the light chain or an antigen-binding portion thereof of an antibody according to any one of claims 1-20.

30. A vector comprising the nucleic acid molecule according to claim 29, wherein the vector optionally comprises an expression control sequence operably linked to said nucleic acid molecule.

31. A host cell comprising the vector according to claim 30 or the nucleic acid molecule according to claim 29.

32. The host cell according to claim 31 comprising a nucleic acid molecule encoding the heavy chain and a nucleic acid molecule encoding the light chain of an antibody or antigen-binding portion according to any one of claims 1-20.

33. A method of making an anti-M-CSF antibody or antigen-binding portion thereof, comprising culturing the host cell according to claim 32 or the cell line according to claim 28 under suitable conditions and recovering said antibody or antigen-binding portions.

34. A method for making a human monoclonal antibody that specifically binds to M-CSF, comprising the steps of:

- a) immunizing a non-human transgenic animal that is capable of producing human antibodies with M-CSF, an immunogenic portion of M-CSF or a cell or tissue expressing M-CSF;
- b) allowing said transgenic animal to mount an immune response to M-CSF; and
- c) isolating B lymphocytes from said transgenic animal.

1 / 24

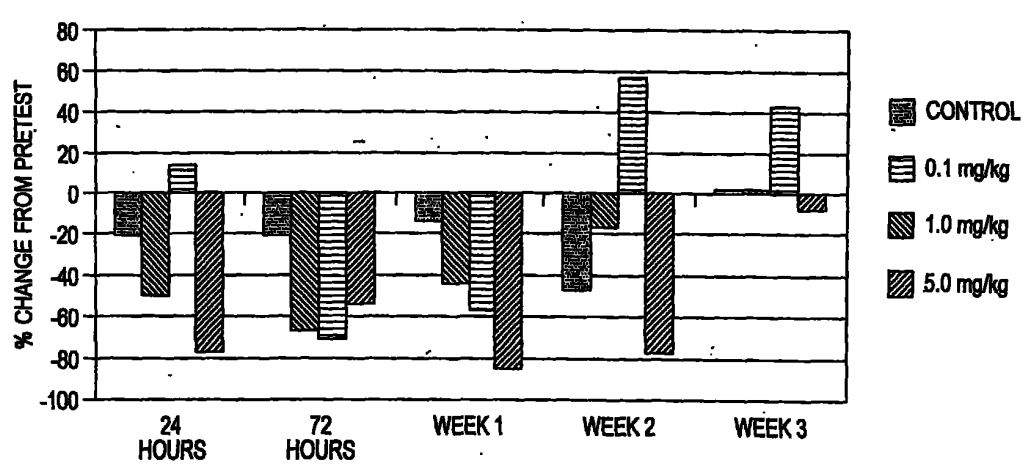
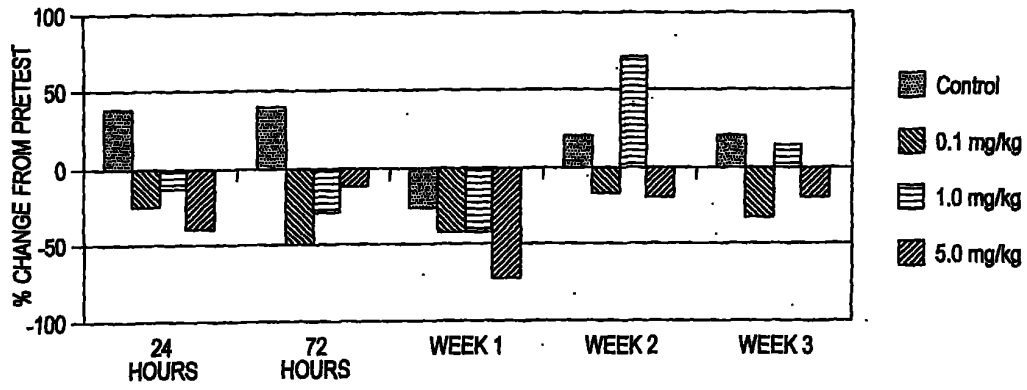


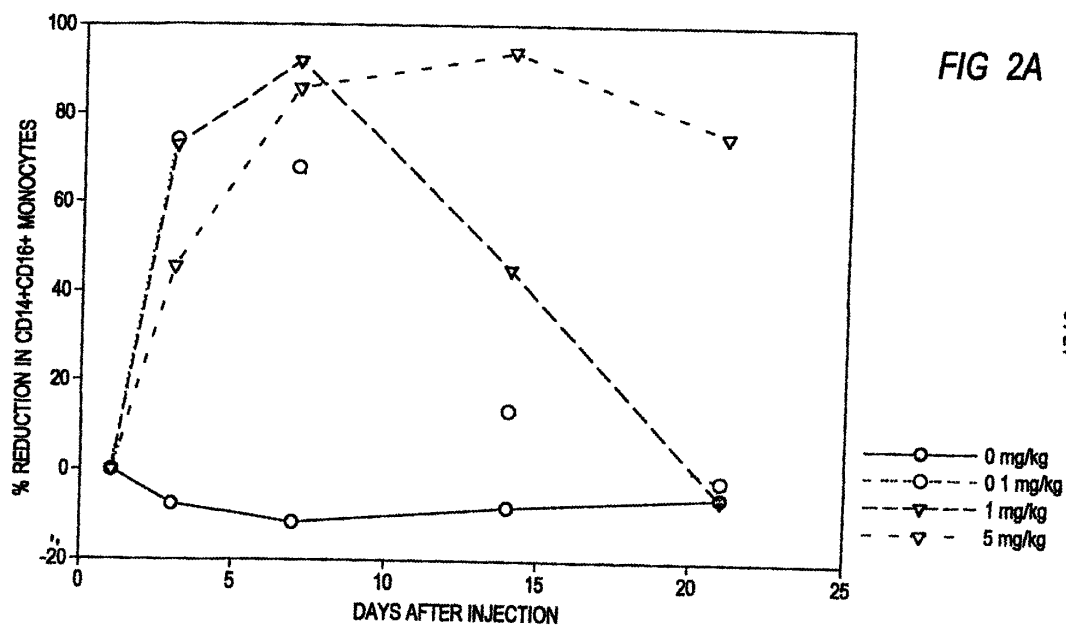
FIG. 1A



2/24

FIG. 1B

Handwritten signature

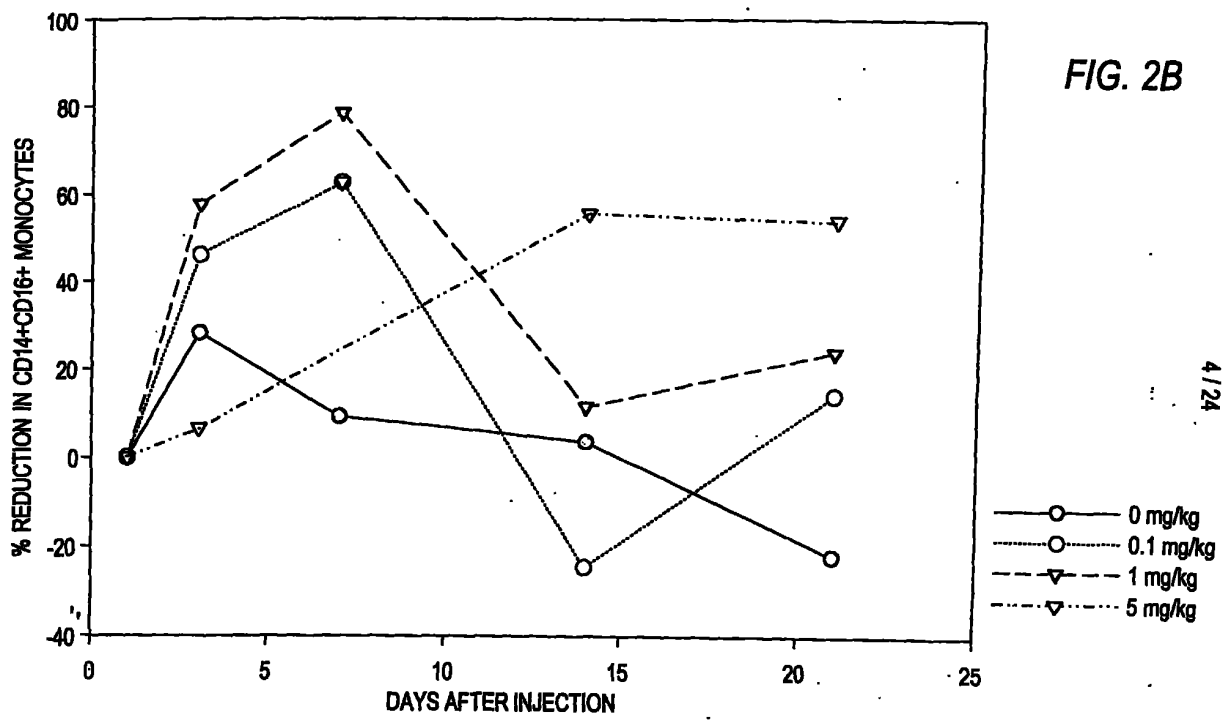


WU 200508124

3/24

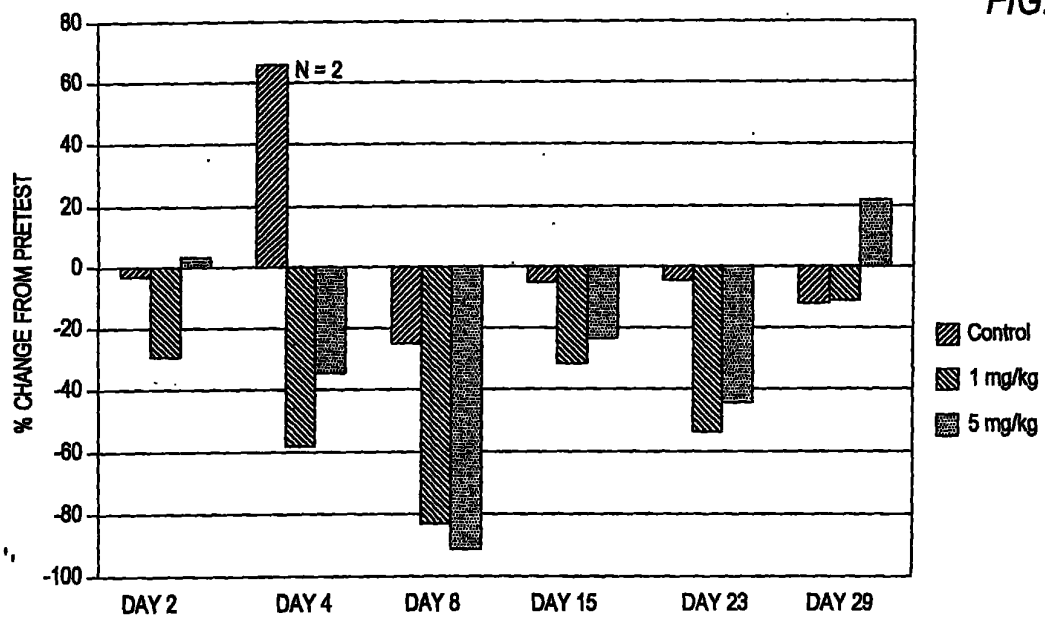
MC7052004/02390

81



U.S. PATENT

FIG. 3A



5/24

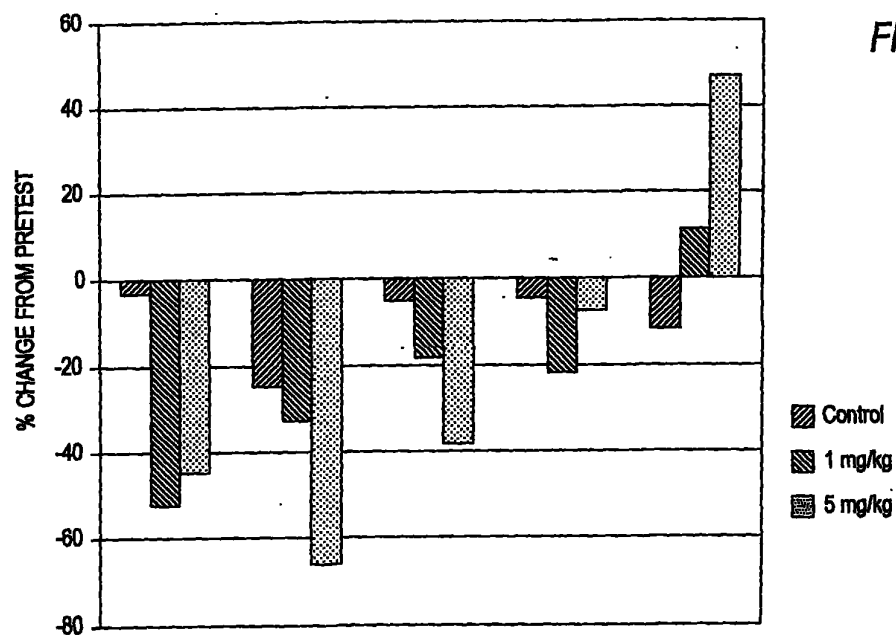
PCT/US2004/029390

28

U.S. PATENT 4,400,000

6/24

PCT/US2004/029390



3

FIG. 4A

Germline V=012, J=JK3
252
Germ DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSISSYLW WYQOKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYC QOSYSTPFT
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
252 (residues 21-127 of SEQ ID NO: 4)
Germ FGPGTKVDIK (SEQ ID NO: 103)
J

WU 2M5N30124

FIG. 4B

Germline V=012, J=JK3
88
Germ DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSISSYLW WYQOKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYC QOSYSTPFT
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
88 (residues 21-127 of SEQ ID NO: 8)
Germ FGPGTKVDIK (SEQ ID NO: 103)
J

7/24

FIG. 4C

Germline V=L2, J=JK3
100
Germ DIQMTQSPATLSVSPGERATLSC RASQSVSSNLA WYQOKPGQAPRLIY GASTRAT GIPARFSGSGSGTEFTLTIS SLQSEDFAVYYC QOYNNWPF
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
100 (residues 21-127 of SEQ ID NO: 12)
Germ FGPGTKVDIK (SEQ ID NO: 107)
J

PCY/US2004/029390

85

WU AMS/00124

FIG. 4D

Germline V=LS, J=JK3
3.8.3
(residues 23-130 of SEQ ID NO: 16)

Germ
(SEQ ID NO: 109)

<u>DIQNTQSPSSVSASVGDRTTTC</u>	<u>RASQGISNLA</u>	<u>WYQKPGKAPKLLIY</u>	<u>AASLQS</u>	<u>GVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC</u>	<u>QQANSFPFT</u>	<u>FGPGTKVDIKR</u>
FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	J

FIG. 4E

Germline V=LS, J=JK4
2.7.3
(residues 23-130 of SEQ ID NO: 20)

Germ
(SEQ ID NO: 117)

<u>DIQNTQSPSSVSASVGDRTTTC</u>	<u>RASQGISNLA</u>	<u>WYQKPGKAPKLLIY</u>	<u>AASLQS</u>	<u>GVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC</u>	<u>QQANSFPFT</u>	<u>FGGKTKVEIKR</u>
FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	J

8/24

FIG. 4F

Germline V=B3, J=JK1
1.120.1

Germ
(SEQ ID NO: 112)

<u>DIQNTQSPSSVSASVGDRTTTC</u>	<u>RASQGISNLA</u>	<u>WYQKPGKAPKLLIY</u>	<u>AASLQS</u>	<u>GVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC</u>	<u>QQANSFPFT</u>	<u>FGGKTKVEIKR</u>
FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	J

1.120.1 (residues 21-134 of SEQ ID NO: 24)

Germ
(SEQ ID NO: 112)

<u>FGGKTKVEIKR</u>
J

PCT/US2004/029390

86

FIG. 4G

Germline V=3-11, D=D7-27, J=JH6
252
-----I-----G-----E-----
Germ QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSDDYMS WIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNWAKNSLYLQMSLRAEDTAVYYCAR ALGGMDEV
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
252 ----- (residues 20-136 of SEQ ID NO: 2)
Germ WGQGTIVTVSSA (SEQ ID NO: 106)
FR4

WO 2005/030124

FIG. 4H

Germline V=3-7, D=6-13, J=JH4
88
-----F-----RAY
Germ EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSYYMS WVRQAPGKGLEWVA NIKQDGSEKYYVDSVKG RFTISRDNWAKNSLYLQMSLRAEDTAVYYCAR GIAAAGYFDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
88 ----- (residues 20-138 of SEQ ID NO: 6)
Germ WGQGTIVTVSSA (SEQ ID NO: 105)
FR4

9/24

FIG. 4I

Germline V=3-23, D=D1-26, J=JH4
100
-----R-----R-----F-----F-V EG-----R-GT-----
Germ EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSYYMS WVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKG RFTISRDNWAKNSLYLQMSLRAEDTAVYYCAR #YSGSYYFYFDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
100 ----- (residues 20-141 of SEQ ID NO: 10)
Germ WGQGTIVTVSSA (SEQ ID NO: 104)
FR4

PCT/US2004/029390

FIG. 4J

Germline V=3-11, D=D7-27, J=JH4
3.8.3

Germ QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSDYVMS WIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNKNSLYLQMNSLRADTAVYYCAR SLTGQDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

3.8.3 (residues 20-135 of SEQ ID NO: 14)

Germ WGQGLVTVSSA (SEQ ID NO: 108)
FR4

WU 2005/030124

FIG. 4K

Germline V=3-33, D=D1-26, J=JH4
2.7.3

Germ QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAAS GFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVA VINYDGSNKYYADSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRADTAVYYCAR GYSYFDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

2.7.3 (residues 20-137 of SEQ ID NO: 18)

Germ WGQGLVTVSSA (SEQ ID NO: 110)
FR4

10/24

FIG. 4L

Germline V=1-18, D=D4-23, J=JH4
1.120.1

Germ QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFSSYGIS WVRQAPGQGLEWVG WISAYNGNTWYAKLQG RVTMTYDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCA# #DYGGNYFDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

1.120.1 (residues 20-139 of SEQ ID NO: 22)

Germ WGQGLVTVSSA (SEQ ID NO: 111)
FR4

PCT/US2004/029390

Handwritten mark resembling a stylized 'P' or '4'.

FIG. 4M

Germline V-A27, J-JK4
8.10.3 -----F-----V-----
Germ EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQKPGQAPRLIIY CASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLPEDEFAVYYC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3
8.10.3 ----- (residues 21-129 of SEQ ID NO: 44)
Germ QQYGSPLT FGGGRVETIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

WU 2005030124

FIG. 4N

Germline V-VH3-48, D-D1-26, J-JH4b
8.10.3 -----F-----DPLLA-AIT-----
Germ EIVLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYAMN WYQKPGQGLEWVS YISSSSSTIYYADSVKG AFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR ###IVG###FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
8.10.3 ----- (residues 20-141 of SEQ ID NO: 30)
Germ WQGGTLVTSSA (SEQ ID NO: 113)
J

11/24

FIG. 4O

Germline V-012, J-JK3
9.14.4 -----P-I-L-----H-----
(residues 23-130 of SEQ ID NO: 28)
Germ DIQMTQSPSSLSASVGRVTITC RASQISSYLN WYQKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPFT FGPGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

PCITUS2004/023390

88

FIG. 4P

Germline V-VH3-11, D-D7-27, J-JH4b
9.14.4

Germ QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAAS GFTESDYYMS WIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR SLTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.14.4 (residues 20-135 of SEQ ID NO: 38)

Germ WGQGTLLTVSSA (SEQ ID NO: 116)
J

U.S. PAT. & TM. OFF.

FIG. 4Q

Germline V-Q12, J-JK3
9.7.2

QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAAS GFTESDYYMS WIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR SLTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
(residues 23-130 of SEQ ID NO: 48)
Germ DIQNTQSPSSLSASVGRVTITC RASQSISSYLM WYQKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPRFVSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPFT FGPGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

12/24

FIG. 4R

Germline V-VH3-11, D-D6-13, J-JH6b
9.7.2

Germ QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAAS GFTESDYYMS WIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR SLTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.7.2 (residues 20-136 of SEQ ID NO: 46)

Germ WGQGTLLTVSSA (SEQ ID NO: 115)
J

U.S. PAT. & TM. OFF.

18

FIG. 4S

Germline V=012, J=JK3
9.14.4I
(residues 23-130 of SEQ ID NO: 28)

-----F-I-L-----

Germ DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITC RASQGISSTYLN WYQKPGKAPKLLIY AASSLOS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QGSYSTPFT FGPGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

WU 2005/03/24

FIG. 4T

Germline V=VH3-11, D=D7-27, J=JH4b
9.14.4I

Germ QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFITSDYYMS WIRQAPGKLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR SLTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.14.4I (residues 20-135 of SEQ ID NO: 26)

Germ WGQGLTVTVSSA (SEQ ID NO: 116)
J

13/24

FIG. 4U

Germline V=A27, J=JK4
8.10.3F

Germ EIVLTQSPGTLSTLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQKPGQAPRLLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3

8.10.3F (residues 21-129 of SEQ ID NO: 32)

Germ QQYGSSPLT FGGGRKVEIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

FCI/US2004/029390

28

FIG. 4V

Germline V=VH3-48, D=D1-26, J=JH4b
8.10.3F -----F-----R-----S-----DELLA-ATF-----
Germ EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYSMN WVRQAPGKGLEWVS YISSSSSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR ###IVG###FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
8.10.3F ----- (residues 20-141 of SEQ ID NO: 30)
Germ WGQGTIVTVSSA (SEQ ID NO: 113)
J

WU 2008/030124

FIG. 4W

Germline V=012, J=JK3
9.7.2IF -----GF-I-----R-----T-----FR3-----CDR3-----J-----
(residues 23-130 of SEQ ID NO: 36)
Germ DIQMTQSPFSSLSASVGDRVTTC RASQSISSYLW NYQOKPGKAPKLLIY AASSLOS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSISTPFT FGGGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

14/24

FIG. 4X

Germline V=VH3-11, D=D6-13, J=JH6b
9.7.2IF -----R-----R-----
Germ QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSDYYMS WIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA# #I#GNDV
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
9.7.2IF ----- (residues 20-136 of SEQ ID NO: 34)
Germ WGQGTIVTVSSA (SEQ ID NO: 115)
J

PCT/US2004/022390

4

FIG. 4Y

Germline V=012, J=JK3
9.7.2C-Ser -----
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J
(residues 23-130 of SEQ ID NO: 52)
Germ DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSISSYL NYQOKPGKAPKLLIY AASSLOS GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYC QSYSTPFT FGPGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

WUJUNJUN124

FIG. 4Z

Germline V=VH3-11, D=D6-13, J=JH6b
9.7.2C-Ser ----- R-g
Germ QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAAS GFTESDYMS WIRQAPGKLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNKNSLYLOMNSLRAEDTAVYYCA NIIGMDV
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
9.7.2C-Ser ----- (residues 20-136 of SEQ ID NO: 50)
Germ WGQGTITVTVSSA (SEQ ID NO: 115)
J

15/24

PCT/US2004/023390

FIG. 4AA

Germline V=012, J=JK3
9.14.4C-Ser -----
(residues 23-130 of SEQ ID NO: 56)
Germ DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSISSYL NYQOKPGKAPKLLIY AASSLOS GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYC QSYSTPFT FGPGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

26

94

FIG. 4BB

Germline V=VH3-11, D=D7-27, J=JH4b

9.14.4C-Ser

Germ QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTESDYFNS WIRQAPGKLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNWAKNSLYLQNNSLRAEDTAVYYCAR #L7GDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.14.4C-Ser (residues 20-135 of SEQ ID NO: 54)

Germ WGQGTLLTVSSA (SEQ ID NO: 116)
J

WU AMN/10124

FIG. 4CC

Germline V=A27, J=JK4

8.10.3C-Ser

Germ EIVLTQSPFTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQKPGQAPRLIY QASSRAT GIPDRFSGSGSGTPTLTISRLEPEDFAVYYC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3

Germ QYQGSPLT FGGKVEIKR (residues 21-129 of SEQ ID NO: 60)
CDR3 J

8.10.3 (SEQ ID NO: 114)

16/24

FIG. 4DD

Germline V=VH3-48, D=D1-26, J=JH4b

8.10.3C-Ser

Germ EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTESSYNN WYQAPGKLEWVS YISSSSSTIYYADSVKG RFTISRDNWAKNSLYLQNNSLRDEDTAVYYCAR ###IVG###FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

8.10.3C-Ser (residues 20-141 of SEQ ID NO: 58)

Germ WGQGTLLTVSSA (SEQ ID NO: 113)
J

PCY/US2004/023390

2

FIG. 4EE

Germline V-A27, J-JK4
8.10.3-CG2

Germ EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQQRPGQAPRLLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3
8.10.3-CG2 ----- (residues 21-129 of SEQ ID NO: 60)
Germ QQYGSSELT FGGQTKVEIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

W/O 2005/03/124

FIG. 4FF

Germline V-VH3-48, D-D1-26, J-JH4b
8.10.3-CG2 -----
Germ EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYSMN MVRQAPGKGLWVS YISSSSSTIYADSVKG REFTISRDNAKNSLYLQNNSLRDEDTAVYYCAR ###IVG###FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
8.10.3-CG2 ----- (residues 20-141 of SEQ ID NO: 62)
Germ WQQTLLVTVSSA (SEQ ID NO: 113)
J

17/24

FIG. 4GG

Germline V-012, J-JK3
9.7.2-CG2 -----
(residues 23-130 of SEQ ID NO: 52)
Germ DIQMTQSPFSSLSASVGDRAVTTC RASQSISSYLN WYQQRPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYC QGSYSTPET FGPGTKVDIKR
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J
(SEQ ID NO: 103)

PCT/US2004/023300

46

FIG. 4HH

Germline V-VH3-11, D-D6-13, J-JH6b
9.7.2-CG2
(residues 20-136 of SEQ ID NO: 66)

R-G

Germ QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAAS GFTFSDYYS WIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA #I#GNDV
(SEQ ID NO: 115) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.7.2-CG2

Germ NGQGTTVTVSSA
J

WU AMNHU124

FIG. 4II

Germline V-012, J-JK3
9.7.2-CG4
(residues 23-130 of SEQ ID NO: 52)

GW-I

T

Germ DIQMTQSPSSLSASVSGDRVTITC RASQSISSYLW WYQOKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QOSYSTPPT FGPGRKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

18/24

FIG. 4JJ

Germline V-VH3-11, D-D6-13, J-JH6b
9.7.2-CG4

R-G

Germ QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAAS GFTFSDYYS WIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA #I#GNDV
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.7.2-CG4 (residues 20-135 of SEQ ID NO: 70)

Germ NGQGTTVTVSSA (SEQ ID NO: 115)
J

PCT/US2004/023390

Handwritten mark

FIG. 4KK

Germline V=012, J=JK3
9.14.4-CG2 -----P-I-L-----
(residues 23-130 of SEQ ID NO: 56)

Germ DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYC QSYSTPFT FGPGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

FIG. 4LL

Germline V=VH3-11, D=D7-27, J=JH4b
9.14.4-CG2 -----G----- 19/24

Germ QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSDYHNS WIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR SLTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.14.4-CG2 ----- (residues 20-135 of SEQ ID NO: 74)

Germ WGQQTLLVTYSSA (SEQ ID NO: 116)
J

FIG. 4MM

Germline V=012, J=JK3
9.14.4-CG4 -----P-I-L-----

Germ DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYC QSYSTPFT FGPGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

PCT/US2004/029390

96

98

FIG. 4NN

Germline V-VH3-11, D-D7-27, J-JH4b
9.14.4-CG4

Germ QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAAS GFTFSDYVMS WIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCAR SLTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.14.4-CG4 (residues 20-135 of SEQ ID NO: 78)

Germ WGQGTLLVTVSSA (SEQ ID NO: 116)
J

U. 2003/01/24

FIG. 400

Germline V-012, J-JK3
9.14.4-Ser
(residues 23-130 of SEQ ID NO: 28)

Germ DIQMTQSPFSSLSASVGDRVTTC RASQSISSYL WYQQKPGKAPKLLIY AASSLQ GVPSRFSGSGSGTDFTLT TISSLPEDFATYYC QQSYSTPPT FGPGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

20/24

FIG. 4PP

Germline V-VH3-11, D-D7-27, J-JH4b
9.14.4-Ser

Germ QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAAS GFTFSDYVMS WIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCAR SLTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.14.4-Ser (residues 20-135 of SEQ ID NO: 82)

Germ WGQGTLLVTVSSA (SEQ ID NO: 116)
J

PCT/US2004/023390

68

FIG. 4QQ

Germline V-012, J-JK3
9.7.2-Ser -----
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J
(residues 23-130 of SEQ ID NO: 48)
Germ DIQMTQSPSSLSASVGRVTITC RASQISSTYLN WYQKPKGKPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QGSYSTPFT FGPGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

WU JMN030124

FIG. 4RR

Germline V-VH3-11, D-D6-13, J-JH6b
9.7.2-Ser -----
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
Germ QVQLVESGGGLVHPGGSRLSCAAS GETFSDYYMS WIRQAPGKGLNWVS YISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAINSLYLQNNSLRAEDTAVYYCA #I4GMQV
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
9.7.2-Ser ----- (residues 20-136 of SEQ ID NO: 50)
Germ WGQGTIVVSSA (SEQ ID NO: 115)
J

21/24

FIG. 4SS

Germline V-A27, J-JK4
8.10.3-Ser -----
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3
Germ EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQKPKGKPKLLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFATYYC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3
8.10.3-Ser ----- (residues 21-129 of SEQ ID NO: 44)
Germ QGYGSSPLT FGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

PCJ/US2004/023390

88

FIG. 4TT

Germline V-VH3-48, D=D1-26, J=JH4b
8.10.3-Ser -----F-T-----R-S-----DPLLA-ATT-----
Germ EVLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYSMM MVRQAPGKLEWVS YISSSSSTIYYADSVKG RFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR ###IVG###FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
8.10.3-Ser ----- (residues 20-141 of SEQ ID NO: 90)
Germ WGQGTIVTVSSA (SEQ ID NO: 113)
J

W/O 2005/03/12

FIG. 4UU

Germline V-A27, J=JH4
8.10.3-CG4 -----
Germ EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQKPGQAPRLIIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3
8.10.3-CG4 ----- (residues 21-129 of SEQ ID NO: 60)
Germ QQYGSSEPLT FGGGTVEIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

22/24

FIG. 4VV

Germline V-VH3-48, D=D1-26, J=JH4b
8.10.3-CG4' -----F-T-----R-S-----DPLLA-ATT-----
Germ EVLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYSMM MVRQAPGKLEWVS YISSSSSTIYYADSVKG RFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR ###IVG###FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
8.10.3-CG4 ----- (residues 20-141 of SEQ ID NO: 94)
Germ WGQGTIVTVSSA (SEQ ID NO: 113)
J

PCT/US2004/029190

16

FIG. 4WW

Germline V=012, J=JK3
9.14.4G1 -----
(residues 23-130 of SEQ ID NO: 28)

Germ DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSISSYLN WYQOKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLT FISSLOPEDFATYYC QOSYSTPFT FGPGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

WO 2003/030124

FIG. 4XX

Germline V=VH3-11, D=D7-27, J=JH4b
9.14.4G1 ----- G-----

Germ QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFESDYYS WIRQAPGKLEWVS YISSSGSTIYYADSVK RFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCAR SLTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.14.4G1 ----- (residues 20-135 of SEQ ID NO: 102)

Germ WGQGLTVTSSA (SEQ ID NO: 116)
J

23 / 24

FIG. 4YY

Germline V=A27, J=JK4
8.10.3FG1 -----

Germ EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQOKPGQAPKLLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLT ISRLPEPEFAVYYC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3

8.10.3FG1 ----- (residues 21-129 of SEQ ID NO: 32)

Germ QQYGSSPLT FGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

PCT/US2004/029390

28

FIG. 4ZZ

Germline V-VH3-48, D-D1-26, J-JH4b
8.10.3FG1

Germ EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GTTFSSYSMN NVROAPGKGLNVS YISSSSSTIYYADSVKG RPTISRDNKNSLYLQNNSLRDEDTAVYYCAR ###IVG##FDY
 FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

8.10.3FG1 ----- (residues 20-141 of SEQ ID NO: 98)

Germ WGQGLTVVSSA (SEQ ID NO: 113)
 J

24/24

PCT/US2004/029390

101

11/77

PCT/US2004/029390

SEQUENCE LISTING

<110> ABGENIX, INC.
WARNER-LAMBERT COMPANY LLC
BEDIAN, VAHE
DEVALARAJA, MADHAV NARASIMHA
FOLTZ, IAN
HAAK-FRIENDSCHO, MARY
KELLERMANN, SIRID-AIMEE
LOW, JOSEPH EDWIN
MOBLEY, JAMES LESLIE

<120> ANTIBODIES TO M-CSF

<130> ABX-PF4 PCT

<140>

<141>

<150> 60/502,163

<151> 2003-09-10

<160> 117

<170> PatentIn Ver. 3.2

<210> 1

<211> 1383

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

atggaggttg	ggctgtgttg	gattttcctt	gttgctatta	taaaagggtg	ccagtgtcag	60
gtgcagcttg	tggagtcttg	gggaggettg	gtcaagcttg	gagggtccct	gagactctcc	120
tgtgcagcct	ctggattcac	cttcagtgac	tactacatga	gctggatccg	ccaggtctca	180
gggaaggggc	tggagtggat	ttcatatatt	agtggtagtg	gtagtaccat	atactacgca	240
gactctgtga	agggccgatt	caaccatctcc	agggacaacg	ccaagaactc	actgtatctg	300
caaatgaaca	gcctgagagc	cgaggacacg	gccgtgtatc	actgtgcgag	agccctgggt	360
gggatggacg	tctggggcca	agggaccacg	gtcacccgtc	cctcagcttc	caccaagggc	420
ccatccgtct	tccccctggc	gccctgctct	agaagcacct	ccgagagcac	agcggccctg	480
ggctgcctgg	tcaaggacta	cttccccgaa	ccggtgacgg	tgtcgtggaa	ctcaggcgct	540
ctgaccagcg	gcgtgcacac	cttcccagct	gtcctacagt	cctcaggact	ctactccctc	600
agcagcgtgg	tgaccgtgcc	ctccagcaac	ttcggcaccc	agacctacac	ctgcaacgta	660
gatacaaaag	ccagcaaacac	caaggtggac	aagacagttg	agcgcaaatg	ttgtgtcgag	720
tgcccacogt	gccagcacc	acctgtggca	ggaccgtcag	tcttccctct	cccccaaaa	780
cccaaggaca	ccctcatgat	ctcccgacc	cctgaggtoa	cgtgcgtggg	gggtggacgtg	840
agccacgaag	accccgaggt	ccagttcaac	tggtagctgg	acggcggtga	gggtgcataat	900
gccaaagaaa	agccacggga	ggagcagttc	aacagcacgt	tccgtgtggg	cagcgtccctc	960
accgttgtgc	accaggactg	gctgaacggc	aaggagtaca	agtgaagggt	ctccaacaaa	1020
ggcctcccag	ccccatcga	gaaaaccatc	tccaaaacca	aagggcagcc	ccgagaacca	1080
caggtgtaca	ccctgcccc	atcccgggag	gagatgacca	agaaccaggt	cagcctgacc	1140
tgctgtgtca	aaggcttcta	ccccagcgac	atgcgcgtgg	agtgggagag	caatggggcag	1200
ccggagaaca	actacaagac	cacacctccc	atgctggact	ccgacggctc	cttcttctct	1260
tcagcaagc	tcacagtgga	caagagcagg	tggcagcagg	ggaaacgtct	ctcatgtctc	1320
gtgatgcatg	aggctctgca	caaccactac	acgcagaaga	gcctctccct	gtctccgggt	1380
aaa						1383

<210> 2
 <211> 461
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2
 Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Ile Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
 1 5 10 15
 Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
 20 25 30
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Ile Ser Tyr Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95
 Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr His Cys Ala Arg Ala Leu Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
 115 120 125
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 130 135 140
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 145 150 155 160
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 165 170 175
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 180 185 190
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 195 200 205
 Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 210 215 220
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 225 230 235 240
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 245 250 255
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 260 265 270

Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln
		275					280					285			
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
	290					295					300				
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
305					310					315					320
Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
				325					330					335	
Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
			340					345					350		
Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
		355					360					365			
Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys
	370					375					380				
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
385					390					395					400
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
				405					410					415	
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
			420					425					430		
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
		435					440					445			
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
	450					455					460				

```
<210> 3
<211> 702
<212> DNA
<213> Homo sapiens
```

<400> 3							
atgagggtcc	ctgctcagct	cctgggggtc	ctgctactct	ggctccgagg	tgccagatgt		60
gacatccaga	tgaccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtaggaga	cagagtcacc		120
atcacttgcc	gggcaagtca	gagcattagc	ggctttttta	attgggtatca	gcagaaacca		180
gggaaagccc	ctaagctcct	gatctatgct	acatccagtt	tgcaaatggt	gggtcccatc		240
aggttcagtg	gcagtggatc	tgggacagat	ttcactctca	ccatcagcag	tctgcaacct		300
gaagattttg	caacttatta	ctgtcaacag	agttacagtg	tcccatcac	tttcggccct		360
gggaccnaag	tggatatcaa	acgaactgtg	gctgcaccat	ctgtcttcac	cttcccgcct		420
tctgatgagc	agttgaaatc	tggaaactgt	agcgttgtgt	gacctgtgaa	taactcttat		480
cccagagagg	ccaaagtaca	gtggaagggt	gataacgccc	tccaatcggg	taactcccag		540
gagagtgtca	cagagcagga	cagcaaggac	agcacctaca	gcctcagcag	caccctgacg		600
ctgagcnaag	cagactcga	gaaacacaaa	gtctacgcct	gcgaagtcac	ccatcagggc		660
ctgagctcgc	ccgtcacaaa	gagcttcaac	aggggagagt	gt			702

<210> 4
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4
 Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Arg
 1 5 10 15

 Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
 20 25 30

 Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser
 35 40 45

 Ile Ser Gly Phe Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 50 55 60

 Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Phe
 65 70 75 80

 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 85 90 95

 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr
 100 105 110

 Ser Val Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
 115 120 125

 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 130 135 140

 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 145 150 155 160

 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 165 170 175

 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 180 185 190

 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 195 200 205

 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 210 215 220

 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230

<210> 5
 <211> 1389
 <212> DNA

~~105~~
105

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Pro Gly Ile Ala Ala Ala Gly Arg Ala Tyr Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
225 230 235 240

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
305 310 315 320

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
405 410 415

106

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 7
<211> 702
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 7
atgaggggtcc ctgctcagct cctgggggtc ctgctactct ggctccgagg tgccagatgt 60
gacatocaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttggaga cagagtcacc 120
atcacttgcc ggccaagtca ggacattagc agttatttaa attggtatca gcagaaacca 180
gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtccatta 240
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 300
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccattcac tttcgccct 360
gggaccaaag tggatatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 420
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgct agcgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactccag 540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 702

<210> 8
<211> 234
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8
Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu Arg
1 5 10 15
Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Pro Ser Gln Asp
35 40 45
Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Leu
65 70 75 80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr
100 105 110

Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 9
<211> 1398
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 9
atggagtttg ggctccgctg gatttttctt gtggctattt taaaagggtg ccagtgtgag 60
gtgcagctgt tggagtctgg gggaggcttg gtacagcctg ggggtccct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttagcagc tatgccatga gctgggtccg ccaggctcca 180
gggaaggggc tggaatgggt ctcagctatt agtggctcgtg gtggtaggac atacttcgca 240

gactccgtga agggccggtt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtatat tctgtgcggt agaaggctat 360
agtgggcgct acggattttt tgactactgg ggccaggga ccctagtcac cgtctcctca 420
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggogccct gctctagaag cactccgag 480
agcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgtc 540
tggaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtctca 600
ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg caccagacc 660
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 720
aaatgttgtg tcgagtgcct accgtgcccc gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc 840
gtggtgggtg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggtg cgtggacggc 900
gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag caggttccgt 960
gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 1020
aaggtctcca acaaaggcct ccagccccc atcgagaaaa ccctctccaa acccaaggg 1080
cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctaccoca ggcacatcgc cgtggagtgg 1200
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 1260
ggctccttot tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380
tcctgtctc cgggtaaa 1398

~~106~~
107

PCT/US2004/029390

9/77

<210> 10
<211> 466
<212> PRT
<213> Homo sapiens.

<400> 10

Met Glu Phe Gly Leu Arg Trp Ile Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly Gly Arg Thr Tyr Phe Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Val Glu Gly Tyr Ser Gly Arg Tyr Gly Phe Phe Asp
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
145 150 155 160

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
210 215 220

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
225 230 235 240

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile-

260										265					270					
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu					
275										280					285					
Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His					
290										295					300					
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg					
305										310					315					
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys					
320										325					330					
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu					
335										340					345					
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr					
350										355					360					
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu					
365										370					375					
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp					
380										385					390					
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met					
395										400					405					
Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp					
410										415					420					
Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His					
425										430					435					
Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro					
440										445					450					
Gly	Lys																			
455																				

```
<210> 11
<211> 702
<212> DNA
<213> Homo sapiens
```

<400> 11						
atggaagccc	cagctcagct	tctcttcctc	ctgtactctt	ggctcccaga	taccactgga	60
gaaatagtg	tgacgcagtc	tccagccacc	ctgtctgtgt	ctccagggga	aagagccacc	120
ctctcotgca	gggcccagtc	gagtggttagc	agcaacttag	cctgggtacca	gcagaaacct	180
ggccaggctc	ccagggtcct	catctatggt	gcattccacca	gggcccagtg	tatcccagac	240
aggatcagtg	gcagtggttc	tggaaacagag	ttaactctca	tcattcagcag	cotgcagctt	300
gaagattttg	cagttttatta	ctgtcagcag	tctaataact	ggccattcac	tttcggccct	360
gggaccaaag	tggatatcaa	acgaactgtg	gctgcaccat	dtgtcttcat	ctcccgcaca	420
tctgatgagc	agttgaatc	tggaaactgt	agcgttgtgt	gocgtctgaa	taactttctat	480
cccagagagg	ccaaagtaca	gtggaagggt	gataacgcoc	tccaatcggg	taactcccag	540

~~105~~
106

WU 2003/03/124

11/77

PCT/US2004/029390

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccacagggc 660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 702

<210> 12
<211> 234
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12
Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15
Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30
Val Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45
Val Ser Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60
Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Ile Pro Asp
65 70 75 80
Arg Ile Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Ile Ile Ser
85 90 95
Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
100 105 110
Asn Trp Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
115 120 125
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 13

<400> 13
000

<210> 14

<211> 460

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
 20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Phe Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95

Ser Leu Ser Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 130 135 140

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
 145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 195 200 205

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
 210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys
 225 230 235 240

~~108~~
109

.. 2003050124

13/77

PCT/US2004/029390

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
245 250 255

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
260 265 270

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
275 280 285

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
290 295 300

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr
305 310 315 320

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
325 330 335

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
340 345 350

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
355 360 365

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
370 375 380

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
385 390 395 400

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser
405 410 415

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
420 425 430

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
435 440 445

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 15

<400> 15
000

<210> 16
<211> 236
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp

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

<210> 17

<400> 17
000

<210> 18

<211> 463

<212> PRT

<213> Homo sapiens

209
110

PCT/US2004/029390

15/77

<400> 18

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15

Cys Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Arg Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
225 230 235 240

Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

290 295 300
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
305 310 315 320
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
405 410 415
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 19

<400> 19
000

<210> 20

<211> 236

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

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

111

Ala Pro Lys Leu Gln Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Asn Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser
85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110

Thr Asn Ser Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
115 120 125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 21

<400> 21
000

<210> 22
<211> 464
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22
Met Glu Trp Thr Trp Ser Phe Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Ser Tyr Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu-

18/77

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

112

.. 5 000000127

19/77

PCT/US2004/029390

Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
405 410 415
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 23
<400> 23
000

<210> 24
<211> 240
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 24
Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15
Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala
20 25 30
Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser
35 40 45
Ile Leu Phe Phe Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln
50 55 60
Lys Pro Gly Gln Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg
65 70 75 80
Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
85 90 95
Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr
100 105 110

Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr
115 120 125
Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
130 135 140
Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
145 150 155 160
Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
165 170 175
Asn Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
180 185 190
Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
195 200 205
Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
210 215 220
Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235 240

<210> 25
<211> 1380
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 25
atggagtttg ggctgagctg ggttttccctt gttgctatta taaaagggtg ccagtgtcag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtcaagcctg gagggtccct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtgac tactatatga gctggatccg ccagggtcca 180
gggaagggac tggagtgggt ttcatacatt agtagtagtg gtagtaccat atactacgca 240
gactctgtga agggccgatt caccatctcc agggacaacg ccaagaactc actgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtgtatt actgtgagag aggcctaact 360
ggggactact ggggccaggg aacctgggc accgtctcct cagcttcac caagggccca 420
tcogtcttcc cctggcgcc ctgctctaga agcacctcc agagcacagc ggccctgggc 480
tgcttggtca aggactactt cccgaaccg gtgacgggtg cgtggaactc aggcgtctctg 540
accagcggcg tgcacacctt cccagctgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc 600
agcgtgggtga ccgtgcctc cagcaacttc tgcacccaga cctacacctg caacgtagat 660
cacaagccca gcaacacca ggtggacaag acagttgagc gcaaatgttg tgtcgagtgc 720
ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga ccgtcagtc tctctctccc cccaaaaccc 780
aaggacaccc tcatgatctc cgggacctt gaggtcacgt gcgtgggtgg ggacgtgagc 840
cacgaagacc ccgaggtcca gttcaactgg tacgtggagc gcgtggaggt gcataatgcc 900
aagacaaaagc cacgggagga gcagttcaac agcacgttcc gtgtgggtcag cgtcctcacc 960
gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc 1020
ctcccagccc ccctcgagaa aaccatctcc aaaaccaag ggcagccccg agaaccacag 1080
gtgtacaccc tgccccatc ccgggaggag atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc 1140
ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc gcogtggagt gggagagcaa tgggcagccg 1200
gagaacaact acaagaccac acctcccatg ctggactccg acggctcctt cttcctctag 1260

113

WU 2005/030124

21/77

PCT/US2004/029390

agcaagctca ccgtggacaa gaggaggtgg cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg 1320
atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1380

<210> 26
<211> 460
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 26
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65 70 75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95
Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140
Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205
Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
210 215 220
Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys
225 230 235 240
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe-

22/77

245										250										255																																
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val																																					
			260						265					270																																						
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe																																					
			275					280					285																																							
Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro																																					
			290				295				300																																									
Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr																																					
			305			310				315					320																																					
Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val																																					
			325					330						335																																						
Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr																																					
			340					345					350																																							
Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg																																					
			355				360					365																																								
Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly																																					
			370			375					380																																									
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro																																					
			385			390				395				400																																						
Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser																																					
			405				410						415																																							
Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln																																					
			420				425						430																																							
Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His																																					
			435				440					445																																								
Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys																																									
			450				455				460																																									

<210> 27

<211> 708

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 27

```

atggacatga ggggtcccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctgggt ccgaggtgcc 60
agatgtgaca tccagatgac ccagctccca tctccctgt ctgcatctgt cggagacaga 120
gtcaccatca cttgccggcc aagtcagatc attagcagtt tattaaattg gtatcagcag 180
aaaccaggga aagcccctaa gctcctgata catgctgcat ccagtttgca aagtgggggtc 240
ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagtagtctg 300
caacctgaag attttgcaac ttactactgt caacagagtt acagtacccc attcactttc 360
ggccctggga ccaaagtgga tatcaaacga actgtggctg caccatctgt cttcatcttc 420
ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480

```

ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac 540
 tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600
 ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 660
 cagggcctga gctcgcccggt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgt 708

<210> 28

<211> 236

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Pro Ser
 35 40 45

Gln Ile Ile Ser Ser Leu Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
 65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 100 105 110

Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
 115 120 125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 29
<211> 1398
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 29
atggagttgg ggctgtgctg ggttttcctt gttgctattt tagaagggtg ccagtgtgag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtacagcctg gggggtccct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagt tttagtatga cctgggtccg ccaggetcca 180
ggaaaggggc tggagtgggt ttcatacatt agtagtagaa gtagtaccat atcctaogca 240
gactctgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaactc actgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagaga caggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agatcctctt 360
ctagcgggag ctaccttctt tgactactgg ggccaggga ccctgggtcac cgtctcctca 420
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cactccgag 480
agcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgtg 540
tggaaactcag ggcctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca 600
ggactctact cctcagcag cgtggtgacc gtgacctcca gcaacttogg caccagacc 660
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 720
aaatgttgtg tggagtggcc accgtgccc gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 780
ctcttcccc caaaacccaa ggacacctc atgatctccc ggacctga ggtcacgtgc 840
gtgggtgggtg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 900
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacttccgt 960
gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 1020
aaggtctcca acaaaggcct cccagcccc atcgagaaaa coatctccaa aaccaagggg 1080
cagccccgag aaccacaggt gtacacctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140
caggtcagcc tgacctgctt ggtcaaaggc ttctacccca ggcacatcgc cgtggagtgg 1200
gagagcaatg ggcagccgga gaaactac aagaccacac ctccatgct ggactccgac 1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320
gtcttctcat gctcgtgat gcatgagget ctgcaaac actacacga gaagagcctc 1380
tcctgtctc cgggtaaa 1398

<210> 30
<211> 466
<212> PRT
<213> Homo sapiens

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

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455 460

Gly Lys
465

<210> 31

<211> 705

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 31

atggaacccc cagcgcagct tctcttctct ctgtctactct ggctcccaga taccacccga 60
gaattttgtg tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120
ctctctctgca gggccagtca gagtgttagc agcagttact tagcctggta ccagcagaaa 180
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcacoca gcagggccac tggcatccca 240
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 300
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gctcacctct cactttcccg 360
ggagggacca aggtggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 420
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 480
tatcccagag aggccaaagt acagtggag gtggataacg cctccaatc gggtaactcc 540
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 600
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctaog cctgcgaagt caccatcag 660
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 705

<210> 32

<211> 235

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Phe Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45

Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50 55 60

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
65 70 75 80

116

PCT/US2004/029390

27/77

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
100 105 110
Gly Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
130 135 140
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
145 150 155 160
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
165 170 175
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
180 185 190
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
195 200 205
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
210 215 220
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 33
<211> 1383
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 33
atggagtttg ggctgagctg ggttttccctt gttgctatta taaaagggtg ccagtgctcag 60
gtgcagctgg tggagttctg gggaggtctg gtcaagcctg gagggtccct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtgac tactacatga gctggatccg ccaggctcca 180
gggaaggggc tggagtgggt ttcatacatt agtagtagtg gtagtaccat atactacgca 240
gactctgtga agggccgatt caccatctcc agggacaacg ccaagaattc actgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtgtatt actgtgagag gcgtatagga 360
ggtatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctcagcttc caccaagggc 420
ccatccgtct tccccctggc gccctgctct agangcacct ccgagagcac agcggccctg 480
ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgctcgtgga ctcaggcgct 540
ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccagct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 600
agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcaac ttcggcaccc agacctacac ctgcaacgta 660
gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagacagttg agcgcaatg ttgtgtcgag 720
tgcccaccgt gccagcacc acctgtggca ggaccgtcag tcttccctct ccccccacaa 780
cccaaggaca cctcatgat ctcccgacc cctgaggtoa cgtgcgtggg ggtggacgtg 840
agccacgaag accccgaggt ccagttcaac tggtagctgg acggcggtga ggtgcataat 900
gccaagacaa agccacggga ggagcagttc aacagcacgt tccgtgtggg cagcgtcctc 960
accgttgtgc accaggactg gctgaacggc aaggagtaca agtgcaaggc ctccaacaaa 1020
ggcctcccag ccccatcga gaaaaccatc tccaaaacca aagggcagcc ccgagaacca 1080
caggtgtaca ccctgcccc atcccgagg gagatgacca agaaccaggt cagcctgafc 1140

tgcctgggtca aaggcttcta cccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag 1200
ccggagaaca actacaagac cacacctccc atgctggact ccgacggctc cttcttcctc 1260
tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcagtctcc 1320
gtgatgcatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt 1380
aaa 1383

<210> 34

<211> 461

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ile Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
115 120 125

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
130 135 140

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
145 150 155 160

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
165 170 175

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
180 185 190

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
195 200 205

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
210 215 220

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
225 230 235 240

116

117

11/02/2004/029390

29/77

PCT/US2004/029390

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
245 250 255
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
260 265 270
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
275 280 285
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
290 295 300
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
305 310 315 320
Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
325 330 335
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
340 345 350
Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
355 360 365
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
370 375 380
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
385 390 395 400
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
405 410 415
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
420 425 430
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
435 440 445
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 35
<211> 708
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 35
atggacatga gggccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc 60
agatgtgaca tccagatgac ccagtcctcca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga 120
gtcaccatca cttgccgggc aagtcagagc attagcggct ttttaatttg gtatcagcag 180
agaccaggga aagccctaa gctcctgac tatgctacat ccagtttaca aagtggggtc 240
ccatcaaggt tcagtgccag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagctctg 300
caacctgaag attttgcaac ttactactgt caacagagtt acagtacccc attcactttc 360
ggcctggga ccaaagtga tatcaaacga actgtggctg caccatctgt cttcatcttc 420

ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480
 ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac 540
 tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600
 ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 660
 cagggcctga gctcgcccggt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgt 708

<210> 36

<211> 236

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

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

118

<210> 37
<211> 1383
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 37
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctt gttgctatta taaaagggtgt ccagtgtcag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtcaagcctg gagggtcctt gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtgac tactatatga gctggatccg ccaggctcca 180
gggaaggagac tggagtgggt ttcatacatt agtagtagtg gtagtaccat atactacgca 240
gactctgtga agggccgatt caccatctcc agggacaacg ccaagaactc actgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtgtatt actgtgcgag aggcctaact 360
ggggactact ggggccaggg aaccctggtc acogtctect cagcttccac caagggccca 420
tccgtcttcc ccttggcgcc ctgctctaga agcacctccg agagcacagc ggccctgggc 480
tgcttgggtca aggactactt ccccgaaaccg gtgacgggtgt cgtggaaactc aggcgtctctg 540
accagcggcg tgcacacctt cccagctgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc 600
agcgtgggtga cctgtccctc cagcagcttg ggcacgaaga cctacacctg caacgtagat 660
cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag agagttgagt ccaaataatg tcccccatgc 720
ccatcatgcc cagcacctga gttcctgggg ggaccatcag tcttctctgt ccccccaaaa 780
ccaaggaca ctctcatgat ctcccgacc cctgagggtca cgtgcgtggg ggtggacgtg 840
agccaggaag accccgagggt ccagttcaac tggtagctgg atggcgtgga ggtgcataat 900
gccaagacaa agccgcggga ggagcagttc aacagcacgt accgtgtggg cagcgtcctc 960
accgtcctgc accaggactg gctgaacggc aaggagtaca agtgcaagggt ctccaacaaa 1020
ggcctcccggt cctccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aggggcagcc cagagagcca 1080
caggtgtaca ccttcccccc atcccaggag gagatgacca agaaccagggt cagcctgacc 1140
tgcttgggtca aaggcttcta cccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggag 1200
ccggagaaca actacaagac cagcctccc gtgctggact cagacgggtc cttcttccctc 1260
tacagcaggc taaccgtgga caagagcagg tggcaggagg ggaatgtctt ctcatgctcc 1320
gtgatgcatg aggtctctga caaccactac acacagaaga gcctctccct gtctccgggt 1380
aaa 1383

<210> 38
<211> 461
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65 70 75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
245 250 255

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
260 265 270

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
275 280 285

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
290 295 300

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
305 310 315 320

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
325 330 335

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
340 345 350

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
355 360 365

Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
370 375 380

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

385		390		395		400									
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
				405					410					415	
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
			420					425					430		
Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
		435					440					445			
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
	450					455					460				

<210> 39

<400> 39
000

<210> 40

<400> 40
000

<210> 41

<400> 41
000

<210> 42

<400> 42
000

<210> 43

<211> 705

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 43
atggaaaccc cagcgcagct tctcttctct ctgctaactt ggctcccaga taccacogga 60
gaatttgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc agcagttact tagcctggta ccagcagaaa 180
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 240
gacaggttca gtggcagtggt gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 300
cctgaagatt ttgtagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcacctct cactttcggc 360
ggagggacca aggtggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 420
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataaactc 480
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 540
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 600
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 660

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt

705

<210> 44
<211> 235
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 44
Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15
Asp Thr Thr Gly Glu Phe Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
20 25 30
Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45
Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50 55 60
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
65 70 75 80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Val Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
100 105 110
Gly Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
130 135 140
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
145 150 155 160
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
165 170 175
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
180 185 190
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
195 200 205
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
210 215 220
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235
<210> 45

179
120

..11

<211> 1386
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 45
atggagtttg ggctgagctg ggttttccctt gttgctatta taaaagggtgt ccagtgtcag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtcaagcctg gagggtcctt gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtgac tactacatga gctggatccg ccaggctcca 180
gggaaggggc tggagtgggt ttcatacatt agtagtagtg gtagtaccat atactacgca 240
gactctgtga agggccgatt caccatctcc agggacaacg ccaagaattc actgtatctg 300
caaatgaaca gctgagagc cgaggacacg gccgtgtatt actgtgcgag gcgtatagga 360
ggtatggagc tctggggcca agggaccaag gtcaccgtct cctcagcttc caccaagggc 420
ccatccgtct tccccctggc gccctgctct agaagcacct ccgagagcac agcggccctg 480
ggctgcctgg tcaaggacta ctccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgct 540
ctgaccagcg gcgtgcacac ctccccagct gtccctacagt cctcaggact ctactccctc 600
agcagcgctg tgaccgtgcc ctcacagcagc ttggggcacga agacctacac ctgcaacgta 660
gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agtccaaata tgggtcccca 720
tgcccatcat gcccagcaac tgagtctctg gggggaccat cagtcttctt gttcccccca 780
aaacccaagg acactctcat gatctcccgg acccctgagg tcacgtgcgt ggtggtggac 840
gtgagccagg aagaccccgga ggtccagttc aactggtacg tggatggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtcaa ggtctccaac 1020
aaaggcctcc cgtccctccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagag 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc 1260
ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc 1320
tcogtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctccg 1380
ggtaaa 1386

<210> 46
<211> 462
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 46
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65 70 75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95
Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

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

121

3777

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
420 425 430

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
435 440 445

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 47
<211> 708
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 47
atggacatga ggggtccccgc tcagctcctg ggggtcctgc tactctgget ccgaggtgcc 60
agatgtgaca tccagatgac ccagtctcca tccctcctgt ctgcatctgt aggagacaga 120
gtcaccatca cttgccgggc aagtcagagc attagcggct ttttaatttg gtatcagcag 180
agaccaggga aagccccctaa gctcctgac tatgctacat ccagtttaca aagtgggggc 240
ccattaaggt tcagtggcag tgaatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagctcg 300
caacctgaag attttgcaac ttactactgt caacagagtt acagtacccc attcactttc 360
ggccttgga ccaaagtga tatcaaacga actgtggctg caccatctgt cttcatcttc 420
ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480
ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aagggtggata acgccctcca atcgggtaac 540
tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600
ctgacgctga gcaaacgaga ctacgagaaa cacaaagtct acgctgcga agtcacccat 660
cagggcctga gctcgcccg cacaagagc ttcaacaggg gagagtgt 708

<210> 48
<211> 236
<212> PRT
<213> Homo sapiens

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

100 105 110
Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
115 120 125
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 49

<400> 49
000<210> 50
<211> 462
<212> PRT
<213> Homo sapiens

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

72

122

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Ile Arg Ile Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
115 120 125

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
130 135 140

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
145 150 155 160

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
165 170 175

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
180 185 190

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
195 200 205

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
210 215 220

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
225 230 235 240

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
245 250 255

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
260 265 270

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
275 280 285

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
290 295 300

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
305 310 315 320

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
325 330 335

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
340 345 350

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
355 360 365

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
370 375 380

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
385 390 395 400

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
405 410 415
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
420 425 430
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
435 440 445
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 51

<400> 51
000<210> 52
<211> 236
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 52
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30
Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
35 40 45
Gln Ser Ile Ser Gly Phe Leu Ile Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
50 55 60
Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
65 70 75 80
Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
85 90 95
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110
Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
115 120 125
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

122
123

PCT/US2004/029390

41/77

165 170 175
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235
<210> 53
<400> 53
000
<210> 54
<211> 461
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 54
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65 70 75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95
Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140
Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly

145		150		155		160									
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
				165						170				175	
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
			180					185					190		
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
		195					200					205			
Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser
	210					215					220				
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys
225					230					235					240
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
				245					250					255	
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
			260					265					270		
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln
		275					280					285			
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
	290					295					300				
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
305					310					315					320
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
				325					330					335	
Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
			340					345					350		
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
		355					360					365			
Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys
	370					375					380				
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
385					390					395				400	
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
				405					410					415	
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
			420					425					430		
Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
		435					440					445			

~~123~~
124

43/77

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 55

<400> 55
000

<210> 56

<211> 236

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Pro Ser
35 40 45

Gln Ile Ile Ser Ser Leu Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110

Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
115 120 125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 57

<400> 57
000

<210> 58
<211> 467
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 58
Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
Ser Ser Phe Ser Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Ser Ser Thr Ile Ser Tyr Ala
65 70 75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95
Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Leu Leu Ala Gly Ala Thr Phe Phe Asp
115 120 125
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
145 150 155 160
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205

125

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
 210 215 220

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
 225 230 235 240

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
 245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
 275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
 305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
 340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
 420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460

Pro Gly Lys
 465

<210> 59

<400> 59
 000

<210> 60
<211> 235
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 60

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45

Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50 55 60

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
65 70 75 80

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95

Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
100 105 110

Gly Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
130 135 140

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
145 150 155 160

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
165 170 175

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
180 185 190

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
195 200 205

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
210 215 220

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 61

<400> 61

126

RC 11/USAMM/029390

47/77

000

<210> 62
<211> 466
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 62
Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
Ser Ser Phe Ser Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Ser Ser Thr Ile Ser Tyr Ala
65 70 75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95
Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Leu Leu Ala Gly Ala Thr Phe Phe Asp
115 120 125
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
145 150 155 160
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205
Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
210 215 220
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
225 230 235 240
Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 260 265 270
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 275 280 285
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 290 295 300
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
 305 310 315 320
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 325 330 335
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 340 345 350
 Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 355 360 365
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 370 375 380
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 385 390 395 400
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
 405 410 415
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 420 425 430
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 435 440 445
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 450 455 460

Gly Lys
465

<210> 63

<400> 63
000

<210> 64

<400> 64
000

<210> 65

126

127

49/77

10/032004/029390

<400> 65
000

<210> 66
<211> 461
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 66

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Ile Arg Ile Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
115 120 125

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
130 135 140

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
145 150 155 160

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
165 170 175

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
180 185 190

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
195 200 205

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
210 215 220

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
225 230 235 240

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
245 250 255
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
260 265 270
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
275 280 285
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
290 295 300
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
305 310 315 320
Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
325 330 335
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
340 345 350
Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
355 360 365
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
370 375 380
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
385 390 395 400
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
405 410 415
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
420 425 430
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
435 440 445
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 67

<400> 67
000

<210> 68

<400> 68
000

<210> 69

123
128

51/77

<400> 69
000

<210> 70
<211> 461
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 70
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65 70 75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95
Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125
Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140
Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205
Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
210 215 220
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
225 230 235 240
Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
245 250 255

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
260 265 270
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
275 280 285
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
290 295 300
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
305 310 315 320
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
325 330 335
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
340 345 350
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
355 360 365
Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
370 375 380
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
385 390 395 400
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
405 410 415
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
420 425 430
Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
435 440 445
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 71

<400> 71
000

<210> 72

<400> 72
000

<210> 73

128
129

53/77

<400> 73
000

<210> 74
<211> 460
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 74
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65 70 75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95
Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100. 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140
Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205
Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
210 215 220
Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys
225 230 235 240
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
245 250 255

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
260 265 270

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
275 280 285

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
290 295 300

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr
305 310 315 320

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
325 330 335

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
340 345 350

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
355 360 365

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
370 375 380

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
385 390 395 400

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser
405 410 415

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
420 425 430

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
435 440 445

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 75

<400> 75
000

<210> 76

<400> 76
000

<210> 77

<400> 77
000

129
130

<210> 78
<211> 461
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 78
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
65 70 75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95
Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140
Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205
Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
210 215 220
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
225 230 235 240
Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
245 250 255
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Gly

260	265	270
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln 275 280 285		
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys 290 295 300		
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu 305 310 315 320		
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys 325 330 335		
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys 340 345 350		
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser 355 360 365		
Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys 370 375 380		
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln 385 390 395 400		
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly 405 410 415		
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln 420 425 430		
Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn 435 440 445		
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys 450 455 460		

<210> 79

<400> 79
000

<210> 80

<400> 80
000

<210> 81

<400> 81
000

<210> 82
 <211> 461
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 82
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
 1 5 10 15
 Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
 20 25 30
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95
 Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 115 120 125
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 130 135 140
 Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
 145 150 155 160
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 165 170 175
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 180 185 190
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 195 200 205
 Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
 210 215 220
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
 225 230 235 240
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 245 250 255
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 260 265 270

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
275 280 285
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
290 295 300
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
305 310 315 320
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
325 330 335
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
340 345 350
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
355 360 365
Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
370 375 380
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
385 390 395 400
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
405 410 415
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
420 425 430
Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
435 440 445
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 83

<400> 83
000

<210> 84

<400> 84
000

<210> 85

<400> 85
000

<210> 86

<211> 462

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
 20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ile Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
 115 120 125

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 130 135 140

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 145 150 155 160

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 165 170 175

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 180 185 190

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 195 200 205

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 210 215 220

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
 225 230 235 240

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 245 250 255

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 260 265 270

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val

275	280	285
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr		
290	295	300
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val		
305	310	315 320
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys		
	325 330	335
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser		
	340 345	350
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro		
	355 360	365
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val		
	370 375	380
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly		
385	390	395 400
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp		
	405 410	415
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp		
	420 425	430
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His		
	435 440	445
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
450	455	460

<210> 87

<400> 87
000

<210> 88

<400> 88
000

<210> 89

<400> 89
000

<210> 90
 <211> 467
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 90
 Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
 1 5 10 15
 Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20 25 30
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 Ser Ser Phe Ser Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Ser Ser Thr Ile Ser Tyr Ala
 65 70 75 80
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95
 Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Leu Leu Ala Gly Ala Thr Phe Phe Asp
 115 120 125
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
 145 150 155 160
 Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 195 200 205
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
 210 215 220
 Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
 225 230 235 240
 Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
 245 250 255
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
275 280 285
Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
340 345 350
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
420 425 430
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460
Pro Gly Lys
465

<210> 91

<400> 91
000

<210> 92

<400> 92
000

<210> 93

<400> 93
000

<210> 94
<211> 467
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 94
Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Ser Phe Ser Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Ser Ser Thr Ile Ser Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Leu Leu Ala Gly Ala Thr Phe Phe Asp
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
145 150 155 160

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
210 215 220

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
225 230 235 240

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met-

260 265 270
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
275 280 285
Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
340 345 350
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
420 425 430
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460
Pro Gly Lys
465

<210> 95

<400> 95
000

<210> 96

<400> 96
000<210> 97
<211> 1413

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 97

```

atggagttgg ggctgagctg ggttttcctt gttgctatta taaaagggtgt ccagtgtgag 60
gtgcagctgg tggagttctg gggaggcttg gtacagcctg gggggtcctt gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagt tttagtatga cctgggtccg ccaggctcca 180
ggaaaggggc tggagtgggt ttcatacatt agtagtagaa gtagtaccat atcctaagca 240
gactctgtga agggcogatt caccatctcc agagacaatg ccaagaactc actgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagaga cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agatcctctt 360
ctagcgggag ctacotttctt tgactactgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 420
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cactctctgg 480
ggcacagcgg ccctgggctg cctggtaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 540
tggaaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacacettcc cggctgtcct acagtctctc 600
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 660
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 720
aaatcttctg acaaaactca cacatgcccc cagtgtccag cacctgaact cctgggggga 780
ccgtcagctc tcctcttccc cccaaaaccc aaggacacc tcctgatctc ccggaccctc 840
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 960
agcagctacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtccctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080
aaagccaagag ggcagccccc agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 1140
ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgctg 1260
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gacgaggtgg 1320
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacag 1380
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tag 1413

```

<210> 98
<211> 470
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 98

```

Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
 1              5              10              15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20              25              30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35              40              45

Ser Ser Phe Ser Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50              55              60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Ser Ser Thr Ile Ser Tyr Ala
 65              70              75              80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85              90              95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val
100              105              110

```

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

67/77

PCT/US2004/029390

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 99

<400> .99
000

<210> 100

<400> 100
000

<210> 101
<211> 1395
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 101

atggagtttg	ggctgagctg	ggttttcctt	gttgctatta	taaaagggtg	ccagtgtcag	60
gtgcagctgg	tggagtctgg	gggaggcttg	gtcaagcctg	gagggtccct	gagactctcc	120
tgtgcagcct	ctggattcac	cttcagtgac	tactatatga	gctggatccg	ccaggctcca	180
gggaaggggac	tggagtgggt	ttcatacatt	agtagtagtg	gtagtaccat	atactacgca	240
gactctgtga	agggccgatt	caccatctcc	agggacaacg	ccaagaactc	actgtatctg	300
caaatgaaca	gcctgagagc	cgaggacacg	gccgtgtatt	actgtgcgag	aggcctaact	360
ggggactact	ggggccaggg	aaccctggtc	accgtctect	cagcttccac	caagggccca	420
tgggtcttcc	ccctggcacc	ctcctccaag	agcacctctg	ggggcacagc	ggcctggggc	480
tgcctgggtca	aggactaact	ccccgaaccg	gtgacgggtg	cgtggaaactc	aggcgccctg	540
accagcggcg	tgcacacctt	cccggctgtc	ctacagtcct	caggactcta	ctccctcagc	600
agcgtgggtga	ccgtgccctc	cagcagcttg	ggcaccacga	cctacatctg	caacgtgaat	660
cacaagccca	gcaacaccaa	ggtggacaag	aaagttgagc	ccaatctctg	tgacaaaact	720
cacacatgcc	caccgtgccc	agcacctgaa	ctcctggggg	gaccgtcagt	cttcctcttc	780
ccccaaaac	ccaaggacac	cctcatgata	tcccggaacc	ctgaggtcac	atgcgtgggtg	840
gtggacgtga	gccacgaaga	ccctgaggtc	aagttcaact	ggtacgtgga	cggcgtggag	900
gtgcataatg	ccaagacaaa	gccgggggag	gagcagtaca	acagcacgta	ccgtgtgggtc	960
agcgtcctca	ccgtcctgca	ccaggactgg	ctgaatggca	aggagtacaa	gtgcaagggtc	1020
tccaacaaag	ccctcccagc	ccccatcgag	aaaaccatct	ccaaagccaa	agggcagccc	1080
cgagaaccac	aggtgtacac	cctgccccca	tcccgggatg	agctgaccaa	gaaccagggtc	1140
agcctgacct	gcctgggtcaa	aggcttctat	cccagcgaca	tgcctgtgga	gtgggagagc	1200
aatgggcagc	cggagaacaa	ctacaagacc	acgcctcccc	tgcctggactc	cgacggctcc	1260
ttcttctctt	acagcaagct	caccgtggac	aagagcaggt	ggcagcaggg	gaacgtcttc	1320
tcatgctccg	tgatgcatga	ggctctgcac	aaccactaca	cgcagaagag	cctctccctg	1380
tctccgggta	aatag					1395

<210> 102

<211> 464

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
 20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

137

260	265	270
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
275	280	285
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
290	295	300
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
305	310	315
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
325	330	335
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
340	345	350
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
355	360	365
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
370	375	380
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
385	390	395
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
405	410	415
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
420	425	430
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
435	440	445
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
450	455	460

<210> 103
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 103
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

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

<210> 104
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

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

<210> 105
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 105
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

~~135~~
138

PCT/US2004/029390

71/77

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

<210> 106
<211> 117
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 106
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ala Leu Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala
115

<210> 107
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 107

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

<210> 108
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 108
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Leu Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 100 105 110
 Ser Ser Ala
 115

<210> 109
 <211> 108
 <212> PRT

~~138~~
139

PCT/US2004/029390

73/77

<213> Homo sapiens

<400> 109

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

<210> 110

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 110

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

<210> 111
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 111
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala
 115

<210> 112
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 112
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
 20 25 30
 Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95
 Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

~~135~~
140

PCT/US2004/029390

75/77

100 105 110

Lys Arg

<210> 113
<211> 116
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 113
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ile Val Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Ala
115

<210> 114
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 114
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

128
141

PCT/US2004/029390

7777

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

<210> 117
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 117
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

ANTICUERPOS DIRIGIDOS A M-CSF

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0001] El factor de estimulación de colonias de macrófagos (M-CSF) es un miembro de la familia de proteínas a la cual se hace referencia como factores de estimulación de colonias (CSFs). El M-CSF es una glicoproteína segregada o de la superficie celular que comprende dos subunidades que están unidas mediante una ligadura de disulfuro con una masa molecular total que varía desde 40 a 90 kD ((Stanley E.R., *et al.*, *Mol. Reprod. Dev.*, 46:4-10 (1997)). Similarmente a otros CSFs, el M-CSF es producido por macrófagos, monocitos y células del tejido conectivo humano, tales como condrocitos y fibroblastos sinoviales, en respuesta a proteínas tales como la interleucina-1 o el factor de necrosis tumoral alfa. El M-CSF estimula la formación de colonias de macrófagos a partir de células madre progenitoras hematopoyéticas pluripotentes (Stanley E.R., *et al.*, *Mol. Reprod. Dev.*, 46:4-10 (1997)).

[0002] El M-CSF se liga típicamente a su receptor, *c-fms*, con el fin de ejercer un efecto biológico. *c-fms* contiene cinco dominios Ig extracelulares, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular con dos dominios quínasa. En caso de ligarse M-CSF a *c-fms*, el receptor homo-dimeriza e inicia una cascada de rutas de transducción de señales, incluyendo las rutas JAK/STAT, PI3K y ERK.

[0003] El M-CSF es un regulador importante de la función, activación y supervivencia de monocitos/macrófagos. Un número de modelos animales confirmaron el rol de M-CSF en varias enfermedades, incluyendo artritis reumatoide (RA) y cáncer. Los macrófagos comprenden células efectoras clave en RA. Se mostró que el grado de infiltración de la sinovial por macrófagos en RA está estrechamente correlacionado con el grado de destrucción articular subyacente. El M-CSF, producido endógenamente en la articulación reumatoide por monocitos/macrófagos, fibroblastos y células endoteliales, actúa sobre células del tipo monocito/macrófago para promover su supervivencia y diferenciación en osteoclastos que destruyen huesos, y aumenta funciones celulares pro-inflamatorias tales como citotoxicidad, producción de superóxidos, fagocitosis, quimiotaxis y producción secundaria de citoquinas. Por ejemplo, el tratamiento con M-CSF en el modelo de artritis experimental inducida por ultrasonido en ratas con streptococcus

agalactiae conduce a una patología aumentada (Abd, A.H., *et al.*, *Lymphokine Cytokine Res.* 10:43-50 (1991)). Similarmente, inyecciones subcutáneas de M-CSF en un modelo murino de artritis inducida por colágeno (collagen-induced arthritis = CIA), que es un modelo para RA, resulta en una exacerbación significativa de los síntomas patológicos de RA (Campbell I.K., *et al.*, *J. Leuk. Biol.* 68:144-150 (2000)). Además, ratones MRL/lpr que son altamente susceptibles a RA y otras enfermedades autoinmunes tienen elevadas concentraciones basales de M-CSF en el suero (Yui M.A., *et al.*, *Am. J. Pathol.* 139:255-261 (1991)). El requerimiento de M-CSF endógeno para mantener la CIA se demostró por una reducción significativa de la severidad de la enfermedad establecida mediante un anticuerpo monoclonal de ratón que neutraliza M-CSF (Campbell I.K., *et al.*, *J. Leuk. Biol.* 68:144-150 (2000)).

[0004] Con respecto a cáncer, la inhibición de factores de estimulación de colonias mediante oligonucleótidos antisentido suprime el crecimiento de xenoinjertos de tumores embrionarios y del colon en ratones mediante la desaceleración de la destrucción de la matriz extracelular (ECM) mediada por macrófagos (Seyedhossein, A., *et al.*, *Cancer Research*, 62:5317-5324 (2002)).

[0005] La ligadura de M-CSF a *c-fms* y la activación subsecuente de monocitos/macrófagos es importante en un número de estados patológicos. Además de RA y cáncer, los otros ejemplos de estados patológicos relacionados con M-CSF incluyen osteoporosis, artritis destructiva, aterogénesis, glomerulonefritis, enfermedad de Kawasaki e infección con HIV-1, estados patológicos en los cuales monocitos/macrófagos y tipos de célula relacionados juegan un rol. Por ejemplo, osteoclastos son similares a macrófagos y son regulados parcialmente por M-CSF. Las señales de crecimiento y diferenciación inducidas por M-CSF en las etapas iniciales de la maduración de osteoclastos son esenciales para la actividad osteoclástica subsecuente en huesos.

[0006] La pérdida ósea mediada por osteoclastos, tanto en la forma de erosiones focales de los huesos como así también en la forma de osteoporosis juxta-articular más difusa, es un problema mayor no resuelto en RA. Las consecuencias de estas pérdidas óseas incluyen deformaciones de las articulaciones, discapacidad funcional, riesgo aumentado de fracturas de huesos y mortalidad aumentada. El M-

144

CSF es exclusivamente esencial para la osteoclastogénesis, y el bloqueo experimental de esta citoquina en modelos animales de artritis anula exitosamente la destrucción de las articulaciones. Se conocen rutas destructivas similares para operar en otras formas de artritis destructiva tales como artritis psoriática, y podrían representar rutas apropiadas para una intervención similar.

[0007] La pérdida ósea postmenopáusica resulta de una remodelación defectuosa de los huesos debida a un desacoplamiento de la formación de los huesos de la resorción ósea exuberante mediada por osteoclastos como consecuencia de una deficiencia de estrógeno. Se mostró en ratones, que la neutralización *in-vivo* de M-CSF usando un anticuerpo bloqueante previene completamente el aumento del número de osteoclastos, el aumento de la resorción ósea y la pérdida ósea resultante inducida por ovariectomía.

[0008] Varias líneas de evidencia señalan que M-CSF juega un rol central en aterogénesis y en hiperplasia intimal proliferativa después de un trauma mecánico a la pared arterial. Se mostró que todos los tipos celulares de importancia en lesiones ateroscleróticas expresan M-CSF, y que estas lesiones todavía aumentan por la exposición a lipoproteína oxidada. El bloqueo de la señalización por M-CSF mediante un anticuerpo *c-fms* neutralizante reduce la acumulación de células espuma derivadas de macrófagos en la raíz aórtica de ratones con deficiencia de apolipoproteína E mantenidos con una dieta elevada en grasas.

[0009] Tanto en la glomerulonefritis humana como en la experimental, se encontró que la expresión de M-CSF glomerular está co-localizada con la acumulación, activación y proliferación local de macrófagos, y está correlacionada con el grado de daño glomerular y proteinuria. El bloqueo de la señalización por M-CSF mediante un anticuerpo dirigido contra su receptor *c-fms* disminuye significativamente la acumulación local de macrófagos en ratones durante la respuesta inflamatoria renal inducida por obstrucción urétrica unilateral experimental.

[0010] La enfermedad de Kawasaki (KD) es una vasculitis pediátrica, febril, aguda de causa desconocida. Es muy común y complicaciones serias implican la vasculatura coronaria en la forma de dilatación aneurismal. Los niveles de M-CSF en suero se elevan significativamente en la fase aguda de la enfermedad de

Kawasaki, y se normalizan después del tratamiento con inmunoglobulina intravenosa. La artritis de célula gigante (GCA) es una vasculopatía inflamatoria que ocurre principalmente en personas de avanzada edad en las cuales células T y macrófagos infiltran las paredes de arterias medianas y grandes conduciendo a consecuencias clínicas que incluyen ceguera y accidente cerebrovascular debido a la oclusión arterial. La implicación activa de macrófagos en GCA se evidencia por la presencia de elevados niveles de mediadores inflamatorios derivados de macrófagos dentro de las lesiones vasculares.

[0011] Se informó que M-CSF hace los macrófagos derivados de monocitos más susceptibles a la infección con HIV-1 *in vitro*. En un estudio reciente, el M-CSF aumentó la frecuencia con la cual se infectaron macrófagos derivados de monocitos, la cantidad de mRNA HIV expresada por célula infectada y el nivel de DNA proviral expresado por cultivo infectado.

[0012] Dado el rol de M-CSF en varias enfermedades, es deseable un método para inhibir M-CSF.

[0013] Existe una necesidad crítica para anticuerpos anti-M-CSF terapéuticos.

RESUMEN DE LA INVENCION

[0014] La presente invención provee anticuerpos humanos aislados o porciones que ligan antígeno de los mismos que ligan específicamente M-CSF humano y actúan como un antagonista de M-CSF y composiciones que comprenden dicho anticuerpo o porción.

[0015] La invención también provee composiciones que comprenden un anticuerpo anti-M-CSF, la cadena pesada y/o liviana, las regiones variables o las porciones que ligan antígeno del mismo, o moléculas de ácido nucleico que codifican un anticuerpo, cadena de anticuerpo o región variable del mismo y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, las composiciones pueden comprender además otro componente, tal como un agente terapéutico o un agente diagnóstico. La invención también provee métodos diagnósticos y terapéuticos. En ciertas realizaciones, las composiciones se usan en una cantidad terapéuticamente efectiva necesaria para tratar o prevenir una enfermedad o condición particular.

[0016] La invención también provee métodos para tratar o prevenir una variedad

de enfermedades y condiciones tales como, pero no estando limitado a, inflamación, cáncer, aterogénesis, trastornos neurológicos y trastornos cardíacos con una cantidad efectiva de un anticuerpo anti-M-CSF de la invención, o una porción que liga antígeno del mismo, ácidos nucleicos que codifican dicho anticuerpo, o cadenas pesadas y/o livianas, las regiones variables o porciones que ligan antígeno del mismo.

[0017] La invención provee líneas celulares aialadas, tales como hibridomas, que producen anticuerpos anti-M-CSF o porciones que ligan antígeno de los mismos.

[0018] La invención también provee moléculas de ácido nucleico que codifican las cadenas pesadas y/o livianas de anticuerpos anti-M-CSF, las regiones variables de los mismos o porciones que ligan antígeno de los mismos.

[0019] La invención provee vectores y células hospedantes que comprenden las moléculas de ácido nucleico, como así también métodos para producir recombinantemente los polipéptidos codificados por las moléculas de ácido nucleico.

[0020] También se proveen animales o plantas transgénicos no humanos que expresan las cadenas pesadas y/o livianas, o porciones que ligan antígeno de las mismas, de anticuerpos anti-M-CSF.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0021] Las Figuras 1A y 1B son gráficos que ilustran que los anticuerpos anti-M-CSF resultaron en una disminución relacionada con la dosis de los conteos de monocitos totales en monos macho y hembra durante el tiempo. Los conteos de monocitos se determinaron mediante dispersión de la luz usando un sistema Cell Dyn de Abbott Diagnostics Inc. Los conteos de monocitos se monitorearon desde las 24 horas hasta las 3 semanas después de la administración de vehículo o del anticuerpo 8.10.3 en una dosis de 0; 0,1; 1 ó 5 mg/kg en un volumen de dosis de 3,79 mL/kg durante un período de aproximadamente 5 minutos.

[0022] La Figura 1A se refiere a monos macho.

[0023] La Figura 1B se refiere a monos hembra.

[0024] Las Figuras 2A y 2B son gráficos que ilustran que un tratamiento anti-M-CSF resultó en una reducción del porcentaje de monocitos CD14+CD16+ en monos macho y hembra. Los conteos de monocitos se monitorearon los días 0-21

después de la administración de vehículo o del anticuerpo 8.10.3 en una dosis de 0; 0,1; 1 ó 5 mg/kg en un volumen de dosis de 3,79 mL/kg durante un período de aproximadamente 5 minutos. Los días 1, 3, 7, 14 y 21 después de la inyección de 8.10.3, se determinó para cada mono ensayado el porcentaje de monocitos dentro del subconjunto CD14+CD16+ después de cada extracción de sangre.

[0025] La Figura 2A se refiere a monos macho.

[0026] La Figura 2B se refiere a monos hembra.

[0027] Las Figuras 3A y 3B son gráficos que ilustran que un tratamiento anti-M-CSF resultó en una disminución del cambio porcentual de monocitos totales con todas las dosis del anticuerpo 8.10.3F y anticuerpo 9.14.4I en comparación con los niveles de monocitos del pre-ensayo.

[0028] La Figura 3A muestra datos recolectados de experimentos usando el anticuerpo 8.10.3F.

[0029] La Figura 3B muestra datos recolectados de experimentos usando el anticuerpo 9.14.4I.

[0030] La Figura 4 es una alineación de secuencias de las secuencias de aminoácidos previstas de las regiones variables de cadena liviana y pesada de veintiseis anticuerpos anti-M-CSF en comparación con las secuencias de aminoácidos de la línea germinal de los genes de la región variable correspondiente. Las diferencias entre las secuencias del anticuerpo y las secuencias del gen de la línea germinal se indican mediante letra negrita. Líneas de trazos indican ausencia de cambio con respecto a la línea germinal. Las secuencias subrayadas en cada alineación representan, de izquierda a derecha, las secuencias FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4.

[0031] La Figura 4A muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 252 (residuos 21-127 de SEQ ID NO: 4) con la secuencia V_HO12, J_H3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0032] La Figura 4B muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 88 (residuos 21-127 de SEQ ID NO: 8) con la secuencia V_HO12, J_H3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0033] La Figura 4C muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 100 (residuos 21-127 de SEQ ID NO: 12) con la secuencia V_LL2, J_L3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 107).

[0034] La Figura 4D muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 3.8.3 (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 16) con la secuencia V_LL5, J_L3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 109).

[0035] La Figura 4E muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 2.7.3 (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 20) con la secuencia V_LL5, J_L4 de la línea germinal (SEQ ID NO: 117).

[0036] La Figura 4F muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 1.120.1 (residuos 21-134 de SEQ ID NO: 24) con la secuencia V_LB3, J_L1 de la línea germinal (SEQ ID NO: 112).

[0037] La Figura 4G muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 252 (residuos 20-136 de SEQ ID NO: 2) con la secuencia V_H3-11, D_H7-27 J_H6 de la línea germinal (SEQ ID NO: 106).

[0038] La Figura 4H muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 88 (residuos 20-138 de SEQ ID NO: 6) con la secuencia V_H3-7, D_H6-13, J_H4 de la línea germinal (SEQ ID NO: 105).

[0039] La Figura 4I muestra la alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 100 (residuos 20-141 de SEQ ID NO: 10) con la secuencia V_H3-23, D_H1-26, J_H4 de la línea germinal (SEQ ID NO: 104).

[0040] La Figura 4J muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 3.8.3 (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 14) con la secuencia V_H3-11, D_H7-27, J_H4 de la línea germinal (SEQ ID NO: 108).

~~146~~
149

[0041] La Figura 4K muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 2.7.3 (residuos 20-137 de SEQ ID NO: 18) con la secuencia V_H3-33, D_H1-26, J_H4 de la línea germinal (SEQ ID NO: 110).

[0042] La Figura 4L muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 1.120.1 (residuos 20-139 de SEQ ID NO: 22) con la secuencia V_H1-18, D_H4-23, J_H4 de la línea germinal (SEQ ID NO: 111).

[0043] La Figura 4M muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 8.10.3 (residuos 21-129 de SEQ ID NO: 44) con la secuencia V_LA27, J_L4 de la línea germinal (SEQ ID NO: 114).

[0044] La Figura 4N muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 8.10.3 (residuos 20-141 de SEQ ID NO: 30) con la secuencia V_H3-48, D_H1-26, J_H4b de la línea germinal (SEQ ID NO: 113).

[0045] La Figura 4O muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 9.14.4 (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 28) con la secuencia V_LO12, J_L3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0046] La Figura 4P muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 9.14.4 (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 38) con la secuencia V_H3-11, D_H7-27, J_H4b de la línea germinal (SEQ ID NO: 116).

[0047] La Figura 4Q muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 9.7.2 (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 48) con la secuencia V_LO12, J_L3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0048] La Figura 4R muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 9.7.2 (residuos 20-136 de SEQ ID NO: 46) con la secuencia V_H3-11, D_H6-13, J_H6b de la línea germinal (SEQ ID NO: 115).

150

[0049] La Figura 4S muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 9.14.4I (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 28) con la secuencia V_KO12 J_K3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0050] La Figura 4T muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 9.14.4I (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 26) con la secuencia V_H3-11, D_H7-27, J_H4b de la línea germinal (SEQ ID NO: 116).

[0051] La Figura 4U muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 8.10.3F (residuos 21-129 de SEQ ID NO: 32) con la secuencia V_KA27, J_K4 de la línea germinal (SEQ ID NO: 114).

[0052] La Figura 4V muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 8.10.3F (residuos 20-141 de SEQ ID NO: 30) con la secuencia V_H3-48, D_H1-26, J_H4b de la línea germinal (SEQ ID NO: 113).

[0053] La Figura 4W muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 9.7.2IF (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 36) con la secuencia V_KO12, J_K3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0054] La Figura 4X muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 9.7.2IF (residuos 20-136 de SEQ ID NO: 34) con la secuencia V_H3-11, D_H6-13, J_H6b de la línea germinal (SEQ ID NO: 115).

[0055] La Figura 4Y muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 9.7.2C-Ser (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 52) con la secuencia V_KO12, J_K3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0056] La Figura 4Z muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 9.7.2C-Ser (residuos 20-136 de SEQ ID NO: 50) con la secuencia V_H3-11, D_H6-13, J_H6b de la línea germinal (SEQ ID NO: 115).

~~158~~
151

[0057] La Figura 4AA muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 9.14.4C-Ser (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 56) con la secuencia V_LO12, J_L3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0058] La Figura 4BB muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 9.14.4C-Ser (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 54) con la secuencia V_H3-11, D_H7-27, J_H4b de la línea germinal (SEQ ID NO: 116).

[0059] La Figura 4CC muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 8.10.3C-Ser (residuos 21-129 de SEQ ID NO: 60) con la secuencia V_LA27, J_L4 de la línea germinal (SEQ ID NO: 114).

[0060] La Figura 4DD muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 8.10.3C-Ser (residuos 20-141 de SEQ ID NO: 58) con la secuencia V_H3-48, D_H1-26, J_H4b de la línea germinal (SEQ ID NO: 113).

[0061] La Figura 4EE muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 8.10.3-CG2 (residuos 21-129 de SEQ ID NO: 60) con la secuencia V_LA27, J_L4 de la línea germinal (SEQ ID NO: 114).

[0062] La Figura 4FF muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 8.10.3-CG2 (residuos 20-141 de SEQ ID NO: 62) con la secuencia V_H3-48, D_H1-26, J_H4b de la línea germinal (SEQ ID NO: 113).

[0063] La Figura 4GG muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 9.7.2-CG2 (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 52) con la secuencia V_LO12, J_L3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0064] La Figura 4HH muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 9.7.2-CG2 (residuos 20-136 de SEQ ID NO: 66) con la secuencia V_H3-11, D_H6-13, J_H6b de la línea germinal (SEQ ID NO: 115).

[0065] La Figura 4II muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 9.7.2-CG4 (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 52) con la secuencia V_LO12, J_L3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0066] La Figura 4JJ muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 9.7.2-CG4 (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 70) con la secuencia V_H3-11, D_H6-13, J_H6b de la línea germinal (SEQ ID NO: 115).

[0067] La Figura 4KK muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 9.14.4-CG2 (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 56) con la secuencia V_LO12, J_L3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0068] La Figura 4LL muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 9.14.4-CG2 (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 74) con la secuencia V_H3-11, D_H7-27, J_H4b de la línea germinal (SEQ ID NO: 116).

[0069] La Figura 4MM muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 9.14.4-CG4 (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 56) con la secuencia V_LO12, J_L3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0070] La Figura 4NN muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 9.14.4-CG4 (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 78) con la secuencia V_H3-11, D_H7-27, J_H4b de la línea germinal (SEQ ID NO: 116).

[0071] La Figura 4OO muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 9.14.4-Ser (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 28) con la secuencia V_LO12, J_L3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0072] La Figura 4PP muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 9.14.4-Ser (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 82) con la secuencia V_H3-11, D_H7-27, J_H4b de la línea germinal (SEQ ID NO: 116).

~~153~~
153

[0073] La Figura 4QQ muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 9.7.2-Ser (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 48) con la secuencia V_LO12, J_L3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0074] La Figura 4RR muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 9.7.2-Ser (residuos 20-136 de SEQ ID NO: 86) con la secuencia V_H3-11, D_H6-13, J_H6b de la línea germinal (SEQ ID NO: 115).

[0075] La Figura 4SS muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 8.10.3-Ser (residuos 21-129 de SEQ ID NO: 44) con la secuencia V_LA27, J_L4 de la línea germinal (SEQ ID NO: 114).

[0076] La Figura 4TT muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 8.10.3-Ser (residuos 20-141 de SEQ ID NO: 90) con la secuencia V_H3-48, D_H1-26, J_H4b de la línea germinal (SEQ ID NO: 113).

[0077] La Figura 4UU muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 8.10.3-CG4 (residuos 21-129 de SEQ ID NO: 60) con la secuencia V_LA27, J_L4 de la línea germinal (SEQ ID NO: 114).

[0078] La Figura 4VV muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 8.10.3-CG4 (residuos 20-141 de SEQ ID NO: 94) con la secuencia V_H3-48, D_H1-26, J_H4b de la línea germinal (SEQ ID NO: 113).

[0079] La Figura 4WW muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 9.14.4G1 (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 28) con la secuencia V_LO12 J_L3 de la línea germinal (SEQ ID NO: 103).

[0080] La Figura 4XX muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 9.14.4G1 (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 102) con la secuencia V_H3-11, D_H7-27, J_H4b de la línea germinal (SEQ ID NO: 116).

~~159~~
159

[0081] La Figura 4YY muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena liviana para el anticuerpo 8.10.3FG1 (residuos 21-129 de SEQ ID NO:32) con la secuencia V_LA27, J_L4 de la línea germinal (SEQ ID NO: 114).

[0082] La Figura 4ZZ muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos prevista de la región variable de cadena pesada para el anticuerpo 8.10.3FG1 (residuos 20-141 de SEQ ID NO: 98) con la secuencia V_H3-48, D_H1-26, J_H4b de la línea germinal (SEQ ID NO: 113).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definición y técnicas generales

[0083] Salvo que se indique lo contrario, los términos científicos y técnicos usados en conexión con la presente invención tendrán los significados entendidos comúnmente por los entendidos en el arte. Además, siempre que el contexto no requiera lo contrario, los términos en singular deben incluir el plural y los términos en plural deben incluir el singular. Generalmente, las nomenclaturas usadas en conexión con, y las técnicas de, cultivo celular y de tejidos, biología molecular, inmunología, microbiología, genética y química de proteínas y ácidos nucleicos e hibridación descritas en ésta son aquellas bien conocidas y usadas comúnmente en el arte.

[0084] Los métodos y las técnicas de la presente invención se realizan generalmente de acuerdo con métodos convencionales bien conocidos en el arte y según lo descrito en varias referencias generales y más específicas que son citadas y discutidas en toda la presente memoria descriptiva, siempre que no se indique lo contrario. Vea, por ejemplo, Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989) y Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates (1992), y Harlow y Lane *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990), que son incorporados en ésta por referencia. Las reacciones enzimáticas y técnicas de purificación se realizan de acuerdo con las especificaciones del fabricante, según lo realizado comúnmente en el arte o de acuerdo con lo descrito en ésta. Las nomenclaturas usadas en conexión con, y los procedimientos y técnicas de

~~152~~
155

laboratorio de química analítica, química orgánica sintética y química medicinal y farmacéutica descritos en ésta son aquellos bien conocidos y usados comúnmente en el arte. Se usan técnicas estándar para síntesis química, análisis químicos, preparaciones farmacéuticas, formulaciones, administración y tratamiento de pacientes.

[0085] Los términos siguientes, salvo indicación en contrario, deben entenderse con los significados siguientes:

[0086] El término "polipéptido" comprende proteínas naturales o artificiales, fragmentos proteicos y análogos polipeptídicos de una secuencia proteica. Un polipéptido puede ser monomérico o polimérico.

[0087] El término "proteína aislada", "polipéptido aislado" o "anticuerpo aislado" significa una proteína, polipéptido o anticuerpo que, en virtud de su origen o fuente de derivación, tiene una a cuatro de las características siguientes: (1) no está asociado con componentes naturalmente asociados que lo acompañan en su estado natural, (2) está libre de otras proteínas de la misma especie, (3) es expresado por una célula de una especie diferente, o (4) no ocurre en la naturaleza. Por lo tanto, un polipéptido que es sintetizado químicamente o sintetizado en un sistema celular diferente de la célula en la cual se origina naturalmente estará "aislado" de los componentes con los que está asociado naturalmente. Una proteína también puede convertirse en una proteína substancialmente libre de componentes con los cuales está asociada naturalmente mediante una aislación, usando técnicas de purificación de proteínas bien conocidas en el arte.

[0088] Ejemplos de anticuerpos aislados incluyen un anticuerpo anti-M-CSF que ha sido purificado por afinidad usando M-CSF, un anticuerpo anti-M-CSF que ha sido sintetizado *in vitro* mediante un hibridoma u otra línea celular y un anticuerpo anti-M-CSF derivado de un ratón transgénico.

[0089] Una proteína o un polipéptido es "substancialmente puro", "substancialmente homogéneo" o "substancialmente purificado" cuando al menos aproximadamente 60 a 75% de una muestra exhibe una sola especie de polipéptido. El polipéptido o la proteína puede ser monomérico o multimérico. Un polipéptido o proteína substancialmente puro comprenderá típicamente aproximadamente 50%, 60%, 70%, 80% o 90% p/p de una muestra proteica, más usualmente

156

aproximadamente 95%, y preferentemente tendrá una pureza mayor de 99%. La pureza u homogeneidad de la proteína puede ser indicada por un número de medios bien conocidos en el arte, tales como electroforesis en gel de poliacrilamida de una muestra de proteína, seguida por la visualización de una sola banda del polipéptido al colorear el gel con un colorante bien conocido en el arte. Para ciertos propósitos, puede proveerse una resolución mayor usando HPLC u otros medios de purificación bien conocidos en el arte.

[0090] El término "fragmento polipeptídico", según lo usado en ésta, se refiere a un polipéptido que tiene una delección amino-terminal y/o carboxi-terminal, pero cuya secuencia de aminoácidos remanente es idéntica a las posiciones correspondientes en la secuencia de ocurrencia natural. En algunas realizaciones, los fragmentos tienen una longitud de al menos 5, 6, 8 ó 10 aminoácidos. En otras realizaciones, los fragmentos tienen una longitud de al menos 14, al menos 20, al menos 50 o al menos 70, 80, 90, 100, 150 ó 200 aminoácidos.

[0091] El término "análogo polipeptídico", según lo usado en ésta, se refiere a un polipéptido que comprende un segmento substancialmente idéntico a una porción de una secuencia de aminoácidos y que tiene al menos una de las propiedades siguientes: (1) ligadura específica a M-CSF bajo condiciones de ligadura adecuadas, (2) capacidad para inhibir M-CSF.

[0092] Típicamente, los análogos polipeptídicos comprenden una sustitución (o inserción o delección) de aminoácidos conservativos con respecto a la secuencia que ocurre naturalmente. Análogos típicos tienen una longitud de al menos 20 ó 25 aminoácidos, preferentemente al menos 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150 ó 200 aminoácidos o mayor, y muchas veces pueden tener la longitud del polipéptido de longitud completa.

[0093] En ciertas realizaciones, las substituciones de aminoácidos del anticuerpo o la porción que liga antígeno del mismo son aquellas que: (1) reducen la susceptibilidad a proteólisis, (2) reducen la susceptibilidad a oxidación, (3) modifican la afinidad de ligadura para formar complejos proteicos o (4) confieren o modifican otras propiedades físicoquímicas o funcionales de tales análogos. Los análogos pueden incluir varias mutaciones de una secuencia diferente a la secuencia peptídica que ocurre normalmente. Por ejemplo, en la secuencia que

157

ocurre normalmente pueden realizarse substituciones simples o múltiples de aminoácidos, preferentemente substituciones con aminoácidos conservativos, preferentemente en la porción del polipéptido fuera del dominio (de los dominios) que forma(n) contactos intermoleculares.

[0094] Una substitución con un aminoácido conservativo no debe modificar substancialmente las características estructurales de la secuencia parental; por ejemplo, un aminoácido de reemplazo no debería modificar la lámina β antiparalela que integra el dominio de ligadura de la inmunoglobulina que ocurre en la secuencia parental, ni debe romper otros tipos de estructura secundarias que caracterizan la secuencia parental. Generalmente, no se usarán análogos de glicina y prolina en una lámina β antiparalela. Ejemplos de estructuras polipeptídicas secundarias y terciarias reconocidas por el arte se describen en *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W. H. Freeman y Company, New York (1984)); *Introduction to Protein Structure* (C. Branden y J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); y Thornton et al., *Nature* 354:105 (1991), que son incorporados cada uno en ésta por referencia.

[0095] Análogos no peptídicos son usados comúnmente en la industria farmacéutica como drogas con propiedades análogas a aquellas del péptido molde. Estos tipos de compuestos no peptídicos se llaman "miméticos peptídicos" o "peptidomiméticos". Fauchere, *J. Adv. Drug Res.* 15:29 (1986); Veber y Freidinger, *TINS* p.392 (1985); y Evans et al., *J. Med. Chem.* 30:1229 (1987), que son incorporados en ésta por referencia. Tales compuestos son desarrollados muchas veces con la ayuda de un modelaje molecular computarizado. Los peptidomiméticos estructuralmente similares a péptidos terapéuticamente útiles pueden usarse para producir un efecto terapéutico o profiláctico equivalente. Generalmente, los peptidomiméticos son estructuralmente similares a un polipéptido paradigma (es decir, un polipéptido que tiene una propiedad bioquímica o actividad farmacológica deseada), tal como un anticuerpo humano, pero tiene uno o más enlaces peptídicos opcionalmente reemplazados por un enlace seleccionado del grupo formado por: $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2-$, $-\text{CH=CH}-$ (cis y trans), $-\text{COCH}_2-$, $-\text{CH(OH)CH}_2-$, y $-\text{CH}_2\text{SO}-$, por métodos bien conocidos en el arte. También puede usarse la substitución sistemática de uno

o más aminoácidos de una secuencia de consenso con un D-aminoácido del mismo tipo (por ejemplo, D-lisina en lugar de L-lisina), para generar péptidos más estables. Además, péptidos minimizados (constrained peptides) que comprenden una secuencia de consenso o una variación de secuencia de consenso sustancialmente idéntica pueden ser generados por métodos conocidos en el arte (Rizo y Gierasch, *Ann. Rev. Biochem.* 61:387 (1992), incorporado en ésta por referencia); por ejemplo, agregando residuos internos de cisteína capaces de formar puentes intramoleculares de disulfuro que ciclizan el péptido.

[0096] Un "anticuerpo" se refiere a un anticuerpo intacto o una porción que liga antígeno que compite con el anticuerpo intacto por ligadura específica. Vea en general, Fundamental Immunology, Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)) (incorporado por referencia en su totalidad para todos los propósitos). Pueden producirse porciones que ligan antígeno mediante técnicas de DNA recombinante o mediante escisión enzimática o química de anticuerpos intactos. En algunas realizaciones, las porciones que ligan antígeno incluyen Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, Fv, dAb y fragmentos de regiones determinantes complementarias (CDR), anticuerpos de cadena simple (scFv), anticuerpos quiméricos, discuerpos y polipéptidos que contienen al menos una porción de un anticuerpo suficiente para conferir al polipéptido ligadura a un antígeno específico.

[0097] Desde el terminal N hasta el terminal C, los dominios variables de ambas, la cadena liviana y la cadena pesada maduras, comprenden las regiones FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. La asignación de aminoácidos a cada dominio está de acuerdo con las definiciones de Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 y 1991)), Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987) o Chothia et al., *Nature* 342:878-883 (1989).

[0098] Según lo usado en ésta, un anticuerpo al cual se hace referencia mediante un número es igual al anticuerpo monoclonal obtenido a partir del hibridoma del mismo número. Por ejemplo, el anticuerpo monoclonal 3.8.3 es el mismo anticuerpo que uno obtenido a partir del hibridoma 3.8.3.

[0099] De acuerdo con lo usado en ésta, un fragmento Fd significa un fragmento de anticuerpo que consiste de los dominios V_H y C_H1; un fragmento Fv consiste de

159

los dominios V_L y V_H de un solo brazo de un anticuerpo; y un fragmento dAb (Ward et al., *Nature* 341:544-546 (1989)) consiste de un dominio V_H .

[0100] En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo de cadena simple (scFv) en el cual dominios V_L y V_H están apareados para formar una molécula monovalente vía un engarce sintético que permite fabricar a los dominios como una sola cadena proteica. (Bird et al., *Science* 242:423-426 (1988) y Huston et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883 (1988).) En algunas realizaciones, los anticuerpos son diacuerpos, es decir, son anticuerpos bivalentes en los cuales dominios V_H y V_L son expresados sobre una sola cadena polipéptida, pero usando un engarce demasiado corto para permitir el apareamiento entre los dos dominios sobre la misma cadena, forzando los dominios de este modo a aparearse con dominios complementarios de otra cadena y creando dos sitios de ligadura de antígeno. (Vea, por ejemplo, Holliger P. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993), y Poljak R. J. et al., *Structure* 2:1121-1123 (1994).) En algunas realizaciones, pueden incorporarse uno o más CDRs de un anticuerpo de la invención en una molécula, ya sea covalentemente o no covalentemente, para trasformarla en una inmunoadhesina que se liga específicamente a M-CSF. En tales realizaciones, la CDR(s) pueden incorporarse como parte de una cadena polipéptida más larga, pueden ligarse covalentemente a otra cadena polipéptida o pueden incorporarse no covalentemente.

[0101] En realizaciones que tienen uno o más sitios de ligadura, estos pueden ser idénticos entre sí o pueden ser diferentes.

[0102] Según lo usado en ésta, el término "anticuerpo humano" significa cualquier anticuerpo en el cual las secuencias de los dominios variable y constante son secuencias humanas. El término comprende anticuerpos con secuencias derivadas de genes humanos, pero que han sido cambiadas, por ejemplo, para disminuir inmunogenicidad posible, aumentar afinidad, eliminar cisteínas que podrían causar un plegado indeseable, etc. El término comprende tales anticuerpos producidos recombinantemente en células no humanas, que podrían impartir glicosilación no típica de células humanas. Estos anticuerpos pueden prepararse de varios modos, como descrito más abajo.

[0103] El término "anticuerpo quimérico", según lo usado en ésta, significa un

160

anticuerpo que comprende regiones de dos o más anticuerpos diferentes. En una realización, una o más de las CDRs se derivan de un anticuerpo anti-M-CSF humano. En otra realización, todas las CDRs se derivan de un anticuerpo anti-M-CSF humano. En otra realización, las CDRs de más de un anticuerpo anti-M-CSF humano se encuentran combinadas en un anticuerpo quimérico. Por ejemplo, un anticuerpo quimérico puede comprender una CDR1 de la cadena liviana de un primer anticuerpo anti-M-CSF humano, una CDR2 de la cadena liviana de un segundo anticuerpo anti-M-CSF humano y una CDR3 de la cadena liviana de un tercer anticuerpo anti-M-CSF humano, y las CDRs de la cadena pesada pueden derivarse de uno o más anticuerpos anti-M-CSF diferentes. Además, las regiones framework pueden estar derivadas de uno de los anticuerpos anti-M-CSF del cual se tomaron una o más de las CDRs o de uno o más anticuerpos humanos diferentes.

[0104] Los fragmentos o análogos de anticuerpos o moléculas de inmunoglobulina pueden prepararse fácilmente por los entendidos en el arte siguiendo las enseñanzas de esta memoria descriptiva. Los terminales amino y carboxi preferidos de fragmentos o análogos se encuentran cerca de los límites de los dominios funcionales. Los dominios estructurales y funcionales pueden identificarse mediante la comparación de los datos de las secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos con los datos de bases de datos de secuencias públicas o privadas. Preferentemente, se usan métodos de comparación computarizados para identificar motivos secuenciales o dominios previstos de conformación proteica que se encuentran en otras proteínas de estructura y/o función conocida. Se conocen métodos para identificar secuencias proteicas que se pliegan en una estructura tridimensional conocida. Vea Bowie et al., *Science* 253:164 (1991).

[0105] El término "resonancia en la superficie de un sensor recubierto con la muestra" (surface plasmon resonance), según lo usado en ésta, se refiere a un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones bioespecífica en tiempo real mediante la detección de alteraciones de concentraciones proteicas dentro de una matriz biosensora, por ejemplo, usando el sistema BIACORE™ (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.). Para descripciones adicionales, vea Jonsson U. et al., *Ann. Biol. Clin.* 51:19-26 (1993); Jonsson U. et

~~168~~
161

al., *Biotechniques* 11:620-627 (1991); Jonsson B. et al., *J. Mol. Recognit.*

8:125-131 (1995); y Jonsson B. et al., *Anal. Biochem.* 198:268-277 (1991).

[0106] El término " K_D " se refiere a la constante del equilibrio de disociación de una interacción anticuerpo-antígeno particular.

[0107] El término "epítope" incluye un determinante proteico capaz de ligarse específicamente a un receptor de inmunoglobulina o célula T o de interactuar de otro modo con una molécula. Los determinantes epitópicos consisten generalmente de grupos superficiales químicamente activos de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcares y generalmente tienen características estructurales tridimensionales específicas, como así también características de carga específicas. Un epítope puede ser "lineal" o "conformacional". En un epítope lineal, todos los puntos de interacción entre la proteína y la molécula interactuante (tal como un anticuerpo) se encuentran linealmente a lo largo de la secuencia de aminoácidos primaria de la proteína. En un epítope conformacional, los puntos de interacción se encuentran a través de residuos de aminoácidos sobre la proteína separados entre sí. Se dice que un anticuerpo se liga específicamente con un antígeno si la constante de disociación es ≤ 1 mM, preferentemente ≤ 100 nM y más preferentemente ≤ 10 nM. En ciertas realizaciones, la K_D es de 1 pM a 500 pM. En otras realizaciones, la K_D se encuentra entre 500 pM y 1 μ M. En otras realizaciones, la K_D se encuentra entre 1 μ M y 100 μ M. En otras realizaciones, la K_D se encuentra entre 100 mM y 10 nM. Una vez determinado un epítope o antígeno deseado, es posible generar anticuerpos contra dicho epítope, por ejemplo, usando las técnicas descritas en la presente invención. Alternativamente, durante el proceso de descubrimiento, la generación y caracterización de anticuerpos puede elucidar información sobre epítopos deseables. Luego, a partir de esta información, es posible rastrear anticuerpos que se ligan competitivamente al mismo epítope. Un enfoque para lograr esto es conducir estudios de competición cruzada para encontrar anticuerpos que se ligan competitivamente entre sí, por ejemplo los anticuerpos compiten para ligarse al antígeno. Un proceso de alto rendimiento para anticuerpos "ligantes" en base a su competición cruzada se describe en la Solicitud de Patente Internacional No. WO 03/48731.

[0108] Según lo usado en ésta, los veinte aminoácidos convencionales y sus

159
162

abreviaciones siguen el uso convencional. Vea *Immunology - A Synthesis* (2nd Edition, E.S. Golub and D.R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991)), que es incorporado en ésta por referencia.

[0109] El término "polinucleótido" según lo referido en ésta, significa una forma polimérica de nucleótidos de una longitud de al menos 10 bases, ya sean ribonucleótidos o desoxinucleótidos o una forma modificada de cualquier tipo de nucleótido. El término incluye formas de hebra simple y de hebra doble.

[0110] El término "polinucleótido aislado", según lo usado en ésta, significa un polinucleótido de origen genómico, cDNA o sintético o alguna combinación de los mismos que, en virtud de su origen o fuente de derivación, tiene una a tres de las características siguientes: (1) no está asociado con el total o una porción de un polinucleótido con el cual el "polinucleótido aislado" se encuentra naturalmente, (2) está ligado operativamente a un polinucleótido al cual no está ligado naturalmente, o (3) no ocurre naturalmente como parte de una secuencia mayor.

[0111] El término "oligonucleótido", según lo usado en ésta, incluye nucleótidos que se encuentran naturalmente y nucleótidos modificados, ligados entre sí mediante enlaces oligonucleotídicos que se encuentran naturalmente y enlaces oligonucleotídicos que no se encuentran naturalmente. Los oligonucleótidos son un subconjunto polinucleotídico que comprende generalmente una longitud de 200 bases o menor. Preferentemente los oligonucleótidos tienen una longitud de 10 a 60 bases y más preferentemente una longitud de 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ó 20 a 40 bases. Los oligonucleótidos usualmente tienen una sola hebra, por ejemplo en el caso de cebadores y sondas; si bien oligonucleótidos pueden ser de doble hebra, por ejemplo para el uso en la construcción de un gen mutante. Los oligonucleótidos de la invención pueden ser oligonucleótidos de sentido o antisentido.

[0112] El término "nucleótidos que se encuentran naturalmente", según lo usado en ésta, incluye desoxirribonucleótidos y ribonucleótidos. El término "nucleótidos modificados", según lo usado en ésta, incluye nucleótidos con grupos de azúcar modificados o substituídos y similares. El término "enlaces oligonucleotídicos" referido en ésta incluye enlaces oligonucleotídicos tales como fosforotioato, fosforoditioato, fosforoselenoato, fosforodiselenoato, fosforoanilotioato,

fosforaniladato, fosforoamidato y similares. Vea, por ejemplo, LaPlanche *et al.*, *Nucl. Acids Res.* 14:9081 (1986); Stec *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 106:6077 (1984); Stein *et al.*, *Nucl. Acids Res.* 16:3209 (1988); Zon *et al.*, *Anti-Cancer Drug Design* 6:539 (1991); Zon *et al.*, *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, pp. 87-108 (F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991)); U.S. Patent No. 5,151,510; Uhlmann y Peyman, *Chemical Reviews* 90:543 (1990), cuyas revelaciones están incorporadas en ésta por referencia. Si deseado, un oligonucleótido puede incluir un marcador para la detección.

[0113] Secuencias "enlazadas operativamente" incluyen ambas, secuencias de control de expresión que se encuentran en posición contigua con el gen de interés y secuencias de control de expresión que actúan en trans o a una distancia para controlar el gen de interés. El término "secuencia de control de expresión", según lo usado en ésta, significa secuencias polinucleotídicas que son necesarias para efectuar la expresión y el procesamiento de secuencias codificadoras a las cuales están ligadas. Las secuencias de control de expresión incluyen secuencias de iniciación de la transcripción, terminación, promotoras e intensificadoras adecuadas; señales de procesamiento de RNA eficientes, tales como señales de corte y empalme y de poliadenilación; secuencias que estabilizan el mRNA citoplasmático; secuencias que aumentan la eficiencia de la traducción (es decir, la secuencia de consenso de Kozak); secuencias que aumentan la estabilidad de la proteína; y, si deseado, secuencias que aumentan la secreción de la proteína. La naturaleza de tales secuencias de control difiere en dependencia del organismo hospedante; en procariotas, tales secuencias de control incluyen generalmente el promotor, el sitio de ligadura ribosomal y la secuencia de terminación de la transcripción; en eucariotas, generalmente, tales secuencias de control incluyen promotores y la secuencia de terminación de la transcripción. El término "secuencias de control" tiene la intención de incluir, como mínimo, todos los componentes cuya presencia es esencial para la expresión y el procesamiento, y puede incluir también componentes adicionales cuya presencia es ventajosa, por ejemplo, secuencias conductoras y secuencias de compañero de fusión.

[0114] El término "vector", según lo usado en ésta, significa una molécula de ácido nucleico capaz de transportar otro ácido nucleico al cual ha sido ligada. En

algunas realizaciones, el vector es un plásmido, es decir, un bucle circular de DNA de doble hebra al cual pueden ligarse segmentos adicionales de DNA. En algunas realizaciones, el vector es un vector viral, al cual pueden ligarse segmentos de DNA adicionales en el genoma viral. En algunas realizaciones, los vectores son capaces de replicación autónoma en una célula hospedante en la cual son introducidos (por ejemplo, vectores bacterianos que tienen un origen de replicación bacteriano y vectores mamíferos episomales). En otras realizaciones, los vectores (por ejemplo, vectores mamíferos no episomales) pueden integrarse en el genoma de una célula hospedante al ser introducidos en la célula hospedante, y de ese modo son replicados conjuntamente con el genoma del hospedante. Además, ciertos vectores son capaces de dirigir la expresión de genes a los cuales están ligados operativamente. A tales vectores se hace referencia en ésta como "vectores de expresión recombinante" (o simplemente, "vectores de expresión").

[0115] El término "célula hospedante recombinante" (o simplemente "célula hospedante"), según lo usado en ésta, significa una célula en la cual ha sido introducido un vector de expresión recombinante. Debe entenderse que los términos "célula hospedante recombinante" y "célula hospedante" no significan solamente la célula objeto particular sino también la progenie de tal célula. Como pueden producirse ciertas modificaciones en generaciones sucesivas, debido a mutaciones o influencias ambientales, tal progenie, de hecho, puede ser no idéntica a la célula parental, pero aún estar incluida dentro del alcance del término "célula hospedante" usado en ésta.

[0116] El término "hibridar selectivamente" referido en ésta significa ligar en forma detectable y específica. Polinucleótidos, oligonucleótidos y fragmentos de los mismos de acuerdo con la invención hibridan selectivamente con hebras de ácido nucleico bajo condiciones de hibridación y lavado que minimizan la ligadura detectable de cantidades apreciables a ácidos nucleicos no específicos. Pueden usarse condiciones de "elevada severidad" o "altamente estrictas" para lograr condiciones de hibridación selectiva, condiciones que son conocidas en el arte y discutidas en ésta. Un ejemplo de condiciones de "elevada severidad" o "altamente estrictas" son presentadas en un método para incubar un polinucleótido con otro polinucleótido, método en el cual un polinucleótido puede ser fijado a una

superficie sólida, tal como una membrana, en un buffer de hibridación de SSPE o SSC 6X, formamida al 50%, reactivo de Denhardt 5X, SDS al 0,5%, 100 µg/ml de DNA de espermatozoos de salmón fragmentado, deanaturalizado a una temperatura de hibridación de 42°C durante 12-16 horas, seguido por dos lavados a 55°C, usando un buffer de lavado de SSC 1X, SDS al 0,5%. Vea también Sambrook et al., *supra*, pp. 9.50-9.55.

[0117] El término "porcentaje de identidad de secuencias" en el contexto de secuencias de ácido nucleico significa el porcentaje de residuos idénticos al comparar y alinear una primera secuencia contigua para determinar su correspondencia máxima con una segunda secuencia contigua. La longitud de la comparación de identidad de secuencias puede abarcar al menos aproximadamente nueve nucleótidos, usualmente al menos aproximadamente 18 nucleótidos, más usualmente al menos aproximadamente 24 nucleótidos, típicamente al menos aproximadamente 28 nucleótidos, más típicamente al menos aproximadamente 32 nucleótidos y preferentemente al menos aproximadamente 36, 48 o más nucleótidos. En el arte se conoce un número de algoritmos diferentes que pueden usarse para medir la identidad de secuencias de nucleótidos. Por ejemplo, secuencias polinucleotídicas pueden compararse usando FASTA, Gap o Bestfit, que son programas de la versión 10.0 del paquete de software Wisconsin Package, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin. FASTA, que incluye, por ejemplo, los programas FASTA2 y FASTA3, provee alineamientos y porcentaje de identidad de secuencias de las regiones que presentan la mejor superposición entre las secuencias problema y de referencia (between the query and search sequences) (Pearson, *Methods Enzymol.* 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.* 132:185-219 (2000); Pearson, *Methods Enzymol.* 266:227-258 (1996); Pearson, *J. Mol. Biol.* 276:71-84 (1998); incorporados en ésta por referencia). Siempre que no sea especificado de otro modo, se usan parámetros predeterminados para un programa o algoritmo particular. Por ejemplo, el porcentaje de identidad de secuencias entre ácidos nucleicos puede ser determinado usando FASTA con sus parámetros predeterminados (un tamaño de palabra de 6 y el factor NOPAM para la matriz de puntaje) o usando Gap con sus parámetros predeterminados provistos en la versión 6.1 de GCG, incorporada en ésta por referencia.

163
166

[0118] Una referencia a una secuencia nucleotídica comprende su complemento, siempre que no sea especificado de otro modo. Por lo tanto, debe entenderse que una referencia a un ácido nucleico que tiene una secuencia particular comprende su hebra complementaria, que es su secuencia complementaria.

[0119] El término "porcentaje de identidad de secuencias" significa un cociente, expresado como un porcentaje del número de residuos idénticos sobre el número de residuos comparados.

[0120] El término "similitud substancial" o "similitud substancial de secuencias", al hacer referencia a un ácido nucleico o un fragmento del mismo, significa que al alinear óptimamente dicho ácido nucleico o fragmento, con inserciones o deleciones nucleotídicas apropiadas, con otro ácido nucleico (o su hebra complementaria), existe una identidad de secuencias nucleotídicas de al menos aproximadamente 85%, preferentemente al menos aproximadamente 90%, y más preferentemente al menos aproximadamente 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% de las bases nucleotídicas, medida por cualquier algoritmo bien conocido para determinar la identidad de secuencias, tales como FASTA, BLAST o Gap, discutidos precedentemente.

[0121] Cuando se aplica a polipéptidos, el término "identidad substancial" significa que cuando dos secuencias peptídicas son alineadas óptimamente, tal como por el programa GAP o BESTFIT, usando pesos predeterminados del intervalo no homólogo (GAP), comparten una identidad de secuencias de al menos 70%, 75% y 80%, preferentemente al menos una identidad de secuencias de 90% ó 95%, y más preferentemente una identidad de secuencia de al menos 97%, 98% ó 99%. En ciertas realizaciones, las posiciones de residuos que no son idénticos difieren en sustituciones con aminoácidos conservativos. Una "sustitución con un aminoácido conservativo" es una sustitución en la cual un residuo de aminoácido es sustituido por otro residuo de aminoácido que tiene un grupo R de cadena lateral con propiedades químicas similares (por ejemplo, carga o hidrofobicidad). En general, una sustitución con un aminoácido conservativo no cambiará substancialmente las propiedades funcionales de una proteína. En los casos en los cuales dos o más secuencias de aminoácidos difieren entre sí por sustituciones conservativas, el porcentaje de identidad de secuencias puede ser ajustado hacia

167

arriba para corregir la naturaleza conservativa de la substitución. Medios para hacer este ajuste son bien conocidos por los entendidos en el arte. Vea, por ejemplo, Pearson, *Methods Mol. Biol.* 243:307-31 (1994). Ejemplos de grupos de aminoácidos que tienen cadenas laterales con propiedades químicas similares incluyen 1) cadenas laterales alifáticas: glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina; 2) cadenas laterales hidroxil-alifáticas: serina y treonina; 3) cadenas laterales que contienen amida: asparagina y glutamina; 4) cadenas laterales aromáticas: fenilalanina, tirosina y triptofano; 5) cadenas laterales básicas: lisina, arginina e histidina; 6) cadenas laterales ácidas: ácido aspártico y ácido glutámico; y 7) cadenas laterales que contienen azufre: cisteína y metionina. Grupos de substitución de aminoácidos conservativos son: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina, glutamato-aspartato y asparagina-glutamina.

[0122] Alternativamente, un reemplazo conservativo es cualquier cambio que tiene un valor positivo en la matriz de semejanza algorítmica (log-likelihood matrix) PAM250 revelada en Gonnet *et al.*, *Science* 256:1443-45 (1992), incorporado en ésta por referencia. Un reemplazo "moderadamente conservativo" es cualquier cambio que tiene un valor no negativo en la matriz de semejanza logarítmica PAM250.

[0123] La identidad de secuencias para polipéptidos se mide típicamente usando software para análisis de secuencias. Un software para análisis de proteínas compara secuencias usando medidas de similitud asignadas a varias substituciones, deleciones y otras modificaciones, incluyendo substituciones con aminoácidos conservativos. Por ejemplo, GCG contiene programas tales como "Gap" y "Bestfit" que pueden usarse con parámetros predeterminados, según lo especificado con los programas, para determinar homología de secuencias o identidad de secuencias entre polipéptidos estrechamente relacionados, tales como polipéptidos homólogos de diferentes especies y organismos, o entre una proteína natural y una mutación de la misma. Vea, por ejemplo, GCG Versión 6.1. Las secuencias polipeptídicas también pueden compararse usando FASTA con parámetros predeterminados o recomendados, vea GCG, versión 6.1. (University of Wisconsin WI) FASTA (por ejemplo, FASTA2 y FASTA3) provee alineaciones

168

y porcentaje de identidad de secuencias de las regiones que presentan la mejor superposición entre las secuencias problema y de referencia (between the query and search sequences) (Pearson, *Methods Enzymol.* 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.* 132:185-219 (2000); Pearson, *Methods Enzymol.* Otro algoritmo preferido, al comparar una secuencia de la invención con una base de datos que contiene un gran número de secuencias de diferentes organismos, es el programa de computación BLAST, especialmente blastp o tblastn, usando parámetros predeterminados provistos con el programa. Vea, por ejemplo, Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990); Altschul *et al.*, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402 (1997).

[0124] La longitud de las secuencias polipeptídicas cuya homología se compara será generalmente de al menos aproximadamente 16 residuos de aminoácidos, usualmente al menos aproximadamente 20 residuos, más usualmente al menos aproximadamente 24 residuos, típicamente al menos aproximadamente 28 residuos, y preferentemente mayor de aproximadamente 35 residuos. Cuando se investiga en una base de datos que contiene secuencias de un gran número de organismos diferentes, es preferible comparar secuencias de aminoácidos.

[0125] De acuerdo con lo usado en ésta, los términos "marcador" o "marcado" se refieren a la incorporación de otra molécula en el anticuerpo. En una realización, el marcador es un marcador detectable, por ejemplo, la incorporación de un aminoácido con marcador radioactivo o fijación de grupos de biotínilo a un polipéptido, grupos que pueden ser detectados por avidina marcada (por ejemplo, streptavidina que contiene un marcador fluorescente o actividad enzimática que puede ser detectada por métodos ópticos o colorimétricos). En otra realización, la etiqueta o marcador puede ser terapéutico, por ejemplo, un conjugado de droga o toxina. En el arte se conocen varios métodos para marcar polipéptidos y glicoproteínas que pueden usarse. Ejemplos de marcadores para polipéptidos incluyen, pero no están limitados a, los siguientes: radioisótopos o radionuclidos (por ejemplo, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), marcadores fluorescentes (por ejemplo, FITC, rodamina, sustancias fosforescentes a base de lantánidos), marcadores enzimáticos (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, β -galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina), marcadores quimioluminiscentes,

166
169

grupos biotinilo, epítopes polipeptídicos predeterminados reconocidos por un reporter secundario (por ejemplo, secuencias apareadas de cierres de leucina (leucine zipper pair sequences), sitios de ligadura para anticuerpos secundarios, dominios que ligan metales, rótulos de epítopes), agentes magnéticos, tales como quelatos de gadolinio, toxinas tal como toxina pertuisa, taxol, citocalacina B, gramicidina D, bromuro de etilio, hemetina, mitomicina, etoposida, tenoposida, vincristina, vinblastina, colquicina, toxorubicina, daunorubicina, dihidroxiantracindiona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-dehidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propanolol, y puromicina y análogos u homólogos de los mismos. En algunas realizaciones, los marcadores están unidos mediante brazos espaciadores de longitud variable para reducir el potencial de impedimento estérico.

[0126] Se entenderá que en toda esta memoria descriptiva y las reivindicaciones, la palabra "comprender" o variaciones tales como "comprende" o

"comprendiendo" implicará la inclusión de una entidad o grupo de entidades, pero no la exclusión de cualquier otra entidad o grupo de entidades.

Anticuerpos anti-M-CSF humanos y caracterización de los mismos

[0127] En una realización, la invención provee anticuerpos anti-M-CSF humanizados. En una realización, la invención provee anticuerpos anti-M-CSF humanos. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-M-CSF humanos se producen mediante la inmunización de un animal transgénico no humano, por ejemplo, un roedor, cuyo genoma comprende genes de inmunoglobulina humana de modo que el roedor produce anticuerpos humanos.

[0128] Un anticuerpo anti-M-CSF de la invención puede comprender una cadena liviana kappa humana o una cadena liviana lambda humana o una secuencia de aminoácidos derivada de la misma. En algunas realizaciones que comprenden una cadena liviana kappa, el dominio variable de la cadena liviana (V_L) es codificado en parte por un gen $V_{\kappa}O12$, $V_{\kappa}L2$, $V_{\kappa}L5$, $V_{\kappa}A27$ o $V_{\kappa}B3$ humano y un gen $J_{\kappa}1$, $J_{\kappa}2$, $J_{\kappa}3$, o $J_{\kappa}4$. En realizaciones particulares de la invención, el dominio variable de la cadena liviana es codificado por el gen $V_{\kappa}O12/J_{\kappa}3$, $V_{\kappa}L2/J_{\kappa}3$, $V_{\kappa}L5/J_{\kappa}3$, $V_{\kappa}L5/J_{\kappa}4$, $V_{\kappa}A27/J_{\kappa}4$ o $V_{\kappa}B3/J_{\kappa}1$.

[0129] En algunas realizaciones, el V_L del anticuerpo anti-M-CSF comprende

170

una o más substituciones de aminoácidos con relación a la secuencia de aminoácidos de la línea germinal. En algunas realizaciones, el V_L del anticuerpo anti-M-CSF comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 substituciones de aminoácidos con relación a la secuencia de aminoácidos de la línea germinal. En algunas realizaciones, una o más de las substituciones de la línea germinal se encuentran en las regiones CDR de la cadena liviana. En algunas realizaciones, las substituciones de aminoácidos con relación a la línea germinal se encuentran en una o más posiciones iguales como las substituciones con relación a la línea germinal en cualquiera o varios de los V_L de los anticuerpos 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1. Por ejemplo, el V_L del anticuerpo anti-M-CSF puede contener una o más substituciones de aminoácidos en comparación con la línea germinal como las encontradas en el V_L del anticuerpo 88, y otras substituciones de aminoácidos en comparación con la línea germinal encontradas en el V_L del anticuerpo 252, que utiliza el mismo gen V_K que el anticuerpo 88. En algunas realizaciones, los cambios de aminoácidos se encuentran en una o más posiciones iguales, pero implican una mutación diferente a aquella encontrada en el anticuerpo de referencia.

[0130] En algunas realizaciones, los cambios de aminoácidos con relación a la línea germinal se encuentran en una o más posiciones iguales como los cambios en cualquiera de los V_L de los anticuerpos 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1, pero los cambios pueden representar substituciones con aminoácidos conservativos en tal posición (tales posiciones) en relación con el aminoácido en el anticuerpo de referencia. Por ejemplo, si una posición particular en uno de estos anticuerpos se cambia en relación a la línea germinal y es glutamato, puede substituirse por aspartato en esta posición. Similarmente, si una substitución de aminoácido en comparación con la línea germinal es serina, puede substituirse la serina por treonina en aquella posición. Substituciones con aminoácidos conservativos se discuten *supra*.

168
171

[0131] En algunas realizaciones, la cadena liviana del anticuerpo anti-M-CSF humano comprende la misma secuencia de aminoácidos como la secuencia de aminoácidos del V_L del anticuerpo 252 (SEQ ID NO: 4), 88 (SEQ ID NO: 8), 100 (SEQ ID NO: 12), 3.8.3 (SEQ ID NO: 16), 2.7.3 (SEQ ID NO: 20), 1.120.1 (SEQ ID NO: 24), 9.14.4I (SEQ ID NO: 28), 8.10.3F (SEQ ID NO: 32), 9.7.2IF (SEQ ID NO: 36), 9.14.4 (SEQ ID NO: 28), 8.10.3 (SEQ ID NO: 44), 9.7.2 (SEQ ID NO: 48), 9.7.2C-Ser (SEQ ID NO: 52), 9.14.4C-Ser (SEQ ID NO: 56), 8.10.3C-Ser (SEQ ID NO: 60), 8.10.3-CG2 (SEQ ID NO: 60), 9.7.2-CG2 (SEQ ID NO: 52), 9.7.2-CG4 (SEQ ID NO: 52), 9.14.4-CG2 (SEQ ID NO: 56), 9.14.4-CG4 (SEQ ID NO: 56), 9.14.4-Ser (SEQ ID NO: 28), 9.7.2-Ser (SEQ ID NO: 48), 8.10.3-Ser (SEQ ID NO: 44), 8.10.3-CG4 (SEQ ID NO: 60), 8.10.3FG1 (SEQ ID NO: 32) ó 9.14.4G1 (SEQ ID NO: 28), ó dicha secuencia de aminoácidos tiene hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 substituciones con aminoácidos conservativos y/o un total de hasta 3 substituciones con aminoácidos no conservativos. En algunas realizaciones, la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos desde el comienzo de la CDR1 hasta el final de la CDR3 de cualquiera de los anticuerpos precedentes.

[0132] En algunas realizaciones, la cadena liviana del anticuerpo anti-M-CSF comprende al menos la CDR1, CDR2 o CDR3 de la cadena liviana de una secuencia de línea germinal o anticuerpo descrito en ésta. En otra realización, la cadena liviana puede comprender regiones CDR1, CDR2 o CDR3 de un anticuerpo seleccionado independientemente entre 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1, ó regiones CDR que tienen menos de 4 o menos de 3 substituciones con aminoácidos conservativos y/o un total de tres o menos substituciones con aminoácidos no conservativos. En otras realizaciones, la cadena liviana del anticuerpo anti-M-CSF comprende la CDR1, CDR2 o CDR3 de la cadena liviana, siendo seleccionada cada una de las mismas independientemente entre las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de un anticuerpo que tiene una región variable de cadena liviana que comprende la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada entre SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24,

169
172

28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 ó 60, ó codificada por una molécula de ácido nucleico que codifica la región V_L seleccionada entre SEQ ID NOS: 3, 7, 11, 27, 31, 35, 43 ó 47. La cadena liviana del anticuerpo anti-M-CSF puede comprender las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada entre 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1 ó SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 ó 60.

[0133] En algunas realizaciones, la cadena liviana comprende las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 del anticuerpo 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1, ó dichas regiones CDR tienen cada una menos de 4 o menos de 3 sustituciones con aminoácidos conservativos y/o un total de tres o menos sustituciones con aminoácidos no conservativos.

[0134] Con respecto a la cadena pesada, en algunas realizaciones, la región variable de la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada es codificada en parte por un gen V_H3-11, V_H3-23, V_H3-7, V_H1-18, V_H3-33, V_H3-48 humano y un gen J_H4, J_H6, J_H4b, ó J_H6b. En una realización particular de la invención, la región variable de la cadena pesada es codificada por el gen V_H3-11/D_H7-27/J_H6, V_H3-7/D_H6-13/J_H4, V_H3-23/D_H1-26/J_H4, V_H3-11/D_H7-27/J_H4, V_H3-33/D_H1-26/J_H4, V_H1-18/D_H4-23/J_H4, V_H3-11/D_H7-27/J_H4b, V_H3-48/D_H1-26/J_H4b, V_H3-11/D_H6-13/J_H6b, V_H3-11/D_H7-27/J_H4b, V_H3-48/D_H1-6/J_H4b, ó V_H3-11/D_H6-13/J_H6b. En algunas realizaciones, la V_H del anticuerpo anti-M-CSF contiene una o más sustituciones, deleciones o inserciones (adiciones) de aminoácidos en relación con la secuencia de aminoácidos de la línea germinal. En algunas realizaciones, el dominio variable de la cadena pesada comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 ó 18 mutaciones de la secuencia de aminoácidos de la línea germinal. En algunas realizaciones, la mutación (las mutaciones) son sustituciones no conservativas en comparación con la secuencia de aminoácidos de la línea germinal. En algunas realizaciones, las mutaciones se encuentran en las

173

regiones CDR de la cadena pesada. En algunas realizaciones, los cambios de aminoácidos se efectúan en una o más posiciones iguales como las mutaciones con respecto a la línea germinal en cualquiera o varias de las V_H de los anticuerpos 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1. En otras realizaciones, los cambios de aminoácidos se efectúan en una o más de las mismas posiciones, pero implican una mutación diferente de aquella en el anticuerpo de referencia.

[0135] En algunas realizaciones, la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos del dominio variable (V_H) del anticuerpo 252 (SEQ ID NO: 2), 88 (SEQ ID NO: 6), 100 (SEQ ID NO: 10), 3.8.3 (SEQ ID NO: 14), 2.7.3 (SEQ ID NO: 18), 1.120.1 (SEQ ID NO: 22), 9.14.4I (SEQ ID NO: 26), 8.10.3F (SEQ ID NO: 30), 9.7.2IF (SEQ ID NO: 34), 9.14.4 (SEQ ID NO: 38), 8.10.3 (SEQ ID NO: 30), 9.7.2 (SEQ ID NO: 46), 9.7.2C-Ser (SEQ ID NO: 50), 9.14.4C-Ser (SEQ ID NO: 54), 8.10.3C-Ser (SEQ ID NO: 58), 8.10.3-CG2 (SEQ ID NO: 62), 9.7.2-CG2 (SEQ ID NO: 66), 9.7.2-CG4 (SEQ ID NO: 70), 9.14.4-CG2 (SEQ ID NO: 74), 9.14.4-CG4 (SEQ ID NO: 78), 9.14.4-Ser (SEQ ID NO: 82), 9.7.2-Ser (SEQ ID NO: 86), 8.10.3-Ser (SEQ ID NO: 90), 8.10.3-CG4 (SEQ ID NO: 94), 8.10.3FG1 (SEQ ID NO: 98) ó 9.14.4G1 (SEQ ID NO: 102), ó dicha secuencia de aminoácidos tiene hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 substituciones con aminoácidos conservativos y/o un total de hasta 3 substituciones con aminoácidos no conservativos. En algunas realizaciones, la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos desde el comienzo de la CDR1 hasta el final de la CDR3 de cualquiera de los anticuerpos precedentes.

[0136] En algunas realizaciones, la cadena pesada comprende las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada del anticuerpo 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1, ó dichas regiones CDR tienen cada una menos de 8, menos de 6, menos de 4 o menos de 3 substituciones con aminoácidos conservativos y/o un total de tres o menos

137
134

substituciones con aminoácidos no conservativos.

[0137] En algunas realizaciones, la cadena pesada comprende una CDR3 de línea germinal o anticuerpo, según lo descrito precedentemente, de una secuencia de anticuerpo como descrita en ésta, y puede comprender también las regiones CDR1 y CDR2 de una secuencia de línea germinal, o puede comprender una CDR1 y CDR2 de una secuencia de anticuerpo, cada una de las cuales es seleccionada independientemente de un anticuerpo que comprende una cadena pesada de un anticuerpo seleccionado entre 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1. En otra realización, la cadena pesada comprende una CDR3 de una secuencia de anticuerpo como descrita en ésta, y también puede comprender las regiones CDR1 y CDR2, cada una de las cuales es seleccionada independientemente de una región CDR1 y CDR2 de una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada entre SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 ó 102, ó codificada por una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región V_H seleccionada entre SEQ ID NOS: 1, 5, 9, 25, 29, 33, 37, 45, 97 ó 101. En otra realización, el anticuerpo comprende una cadena liviana como expuesta precedentemente y una cadena pesada como expuesta precedentemente.

[0138] Un tipo de sustitución de aminoácidos que puede efectuarse es cambiar una o más cisteínas en el anticuerpo, que pueden ser químicamente reactivas, por otro residuo, tal como, sin limitación, alanina o serina. En una realización, se efectúa una sustitución de una cisteína no canónica. La sustitución puede efectuarse en una región framework de un dominio variable o en el dominio constante de un anticuerpo. En otra realización, la cisteína es una región no canónica del anticuerpo.

[0139] Otro tipo de sustitución de aminoácidos que puede efectuarse consiste en remover cualquier sitio proteolítico potencial en el anticuerpo, particularmente aquellos sitios que se encuentran en una región CDR o framework de un dominio variable o en el dominio constante de un anticuerpo. La sustitución de residuos de

175

cisteína y la eliminación de sitios proteolíticos puede disminuir el riesgo de cualquier heterogeneidad en el producto de anticuerpo y aumentar de este modo su homogeneidad. Otro tipo de substitución de aminoácidos consiste en la eliminación de pares de asparagina-glicina, que forman sitios potenciales de deamidación, modificando uno o ambos residuos.

[0140] En algunas realizaciones, la lisina C-terminal de la cadena pesada del anticuerpo anti-M-CSF de la invención no está presente (Lewis D.A., *et al.*, *Anal. Chem.*, 66(5): 585-95 (1994)). En varias realizaciones de la invención, las cadenas pesada y liviana de los anticuerpos anti-M-CSF pueden incluir opcionalmente una secuencia señal.

[0141] En un aspecto, la invención se refiere a anticuerpos monoclonales anti-M-CSF humanos y a las líneas celulares producidas por ingeniería genética para producirlos. La Tabla 1 enumera los identificadores de secuencia (SEQ ID NOS) de los ácidos nucleicos que codifican la región variable de las cadenas pesada y liviana y las secuencias de aminoácidos previstas para los anticuerpos monoclonales: 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3 y 9.7.2. Los anticuerpos variantes adicionales 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1 pueden producirse mediante métodos conocidos por los entendidos en el arte.

Tabla 1

ANTICUERPOS ANTI-M-CSF HUMANOS				
MAb	IDENTIFICADOR DE SECUENCIAS (SEQ ID NOS):			
	Longitud completa			
	Pesado		Liviano	
	DNA	Proteína	DNA	Proteína
252	1	2	3	4
88	5	6	7	8
100	9	10	11	12
3.8.3		14		16
2.7.3		18		20

173
176

ANTICUERPOS ANTI-M-CSF HUMANOS				
MAb	IDENTIFICADOR DE SECUENCIAS (SEQ ID NOS:)			
	Longitud completa			
	Pesado		Liviano	
	DNA	Proteína	DNA	Proteína
1.120.1		22		24
9.14.4I	25	26	27	28
9.14.4	37	38	27	28
9.14.4C-Ser		54		56
9.14.4CG2		74		56
9.14.4CG4		78		56
9.14.4-Ser		82	27	28
9.14.4-G1	101	102	27	28
8.10.3F	29	30	31	32
8.10.3	29	30	43	44
8.10.3C-Ser		58		60
8.10.3CG2		62		60
8.10.3-Ser		90	43	44
8.10.3CG4		94		60
8.10.3FG1	97	98	31	32
9.7.2IF	33	34	35	36
9.7.2	45	46	47	48
9.7.2C-Ser		50		52
9.7.2CG2		66		52
9.7.2CG4		70		52
9.7.2-Ser		86	47	48

Clase y subclase de anticuerpos anti-M-CSF

[0142] La clase y subclase de anticuerpos anti-M-CSF puede determinarse mediante cualquier método conocido en el arte. En general, la clase y subclase de un anticuerpo puede determinarse usando anticuerpos específicos para una clase y

177

subclase particular del anticuerpo. Tales anticuerpos están comercialmente disponibles. La clase y subclase pueden determinarse mediante ELISA, transferencia de Western, como así también otras técnicas. Alternativamente, la clase y subclase puede determinarse mediante la secuenciación del total o de una porción de los dominios constantes de las cadenas pesadas y/o livianas de los anticuerpos, comparando sus secuencias de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos conocidas de varias clases y subclases de inmunoglobulinas, y determinando la clase y subclase de los anticuerpos.

[0143] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-M-CSF es un anticuerpo monoclonal. El anticuerpo anti-M-CSF puede ser una molécula IgG, IgM, IgE, IgA o IgD. En realizaciones preferidas, el anticuerpo anti-M-CSF es una subclase de IgG1, IgG2, IgG3 ó IgG4. En otras realizaciones preferidas, el anticuerpo pertenece a la subclase IgG2 o IgG4. En otra realización preferida, el anticuerpo pertenece a la subclase IgG1.

Selectividad para especies y moléculas

[0144] En otro aspecto de la invención, los anticuerpos anti-M-CSF muestran ambas, selectividad para especies y selectividad molecular. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-M-CSF se liga a M-CSF humano, de mono cynomologus y de ratón. Siguiendo las enseñanzas de la memoria descriptiva, puede determinarse la selectividad para especies del anticuerpo anti-M-CSF usando métodos bien conocidos en el arte. Por ejemplo, puede determinarse la selectividad para especies usando transferencia de Western, FACS, ELISA, RIA, un ensayo de proliferación celular o un ensayo de ligadura al receptor de M-CSF. En una realización preferida, puede determinarse la selectividad para especies usando un ensayo de proliferación celular o ELISA.

[0145] En otra realización, el anticuerpo anti-M-CSF tiene una selectividad para M-CSF que es al menos 100 veces mayor que su selectividad para GM-/G-CSF. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-M-CSF no exhibe ninguna ligadura específica apreciable con otra proteína cualquiera distinta a M-CSF. Puede determinarse la selectividad del anticuerpo anti-M-CSF para M-CSF usando métodos bien conocidos en el arte, siguiendo las enseñanzas de la memoria descriptiva. Por ejemplo, puede determinarse la selectividad usando transferencia

~~178~~
178

de Western, FACS, ELISA o RIA.

Identificación de epítopes de M-CSF reconocidos por anticuerpos anti-M-CSF

[0146] La invención provee un anticuerpo monoclonal anti-M-CSF humano que se liga a M-CSF y compite con, compite en forma cruzada con y/o se liga al mismo epítope y/o se liga a M-CSF con la misma K_D como (a) un anticuerpo seleccionado entre 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1; (b) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 ó 102; (c) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena liviana que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 ó 60; (d) un anticuerpo que comprende ambas, una región variable de la cadena pesada como la definida en (b) y una región variable de la cadena liviana como la definida en (c).

[0147] Puede determinarse si un anticuerpo se liga al mismo epítope, compite para ligarse con, compite en forma cruzada para ligarse con o tiene la misma K_D como un anticuerpo anti-M-CSF usando métodos conocidos en el arte. En una realización, se permite que el anticuerpo anti-M-CSF de la invención se ligue a M-CSF bajo condiciones de saturación y luego se mide la capacidad del anticuerpo de ensayo para ligarse a M-CSF. Si el anticuerpo de ensayo es capaz de ligarse a M-CSF simultáneamente con el anticuerpo anti-M-CSF, entonces el anticuerpo de ensayo se liga a un epítope diferente que el anticuerpo anti-M-CSF. Sin embargo, si el anticuerpo de ensayo no es capaz de ligarse a M-CSF simultáneamente, entonces el anticuerpo de ensayo se liga al mismo epítope, a un epítope solapado o a un epítope que se encuentra muy cerca del epítope ligado por el anticuerpo anti-M-CSF humano. Este experimento puede realizarse usando ELISA, RIA o FACS. En una realización preferida, el experimento se realiza usando BIACORE™.

Afinidad de ligadura de anticuerpos anti-M-CSF dirigidos a M-CSF

[0148] En algunas realizaciones de la invención, los anticuerpos anti-M-CSF se ligan a M-CSF con elevada afinidad. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-

179

M-CSF se liga con M-CSF con una K_D de 1×10^{-7} M o menor. En otras realizaciones preferidas, el anticuerpo se liga a M-CSF con una K_D de 1×10^{-8} M, 1×10^{-9} M, 1×10^{-10} M, 1×10^{-11} M, 1×10^{-12} M o menor. En ciertas realizaciones, la K_D es de 1 pM a 500 pM. En otras realizaciones, la K_D se encuentra entre 500 pM y 1 μ M. En otras realizaciones, la K_D se encuentra entre 1 μ M y 100 nM. En otras realizaciones, la K_D se encuentra entre 100 nM y 10 nM. En una realización aún más preferida, el anticuerpo se liga a M-CSF con substancialmente la misma K_D como un anticuerpo seleccionado entre 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1. En otra realización preferida, el anticuerpo se liga a M-CSF con substancialmente la misma K_D como un anticuerpo que comprende una CDR2 de una cadena liviana y/o una CDR3 de una cadena pesada de un anticuerpo seleccionado entre 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1. En aún otra realización preferida, el anticuerpo se liga a M-CSF con substancialmente la misma K_D como un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 ó 102, o que comprende una región variable de cadena liviana que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 ó 60. En otra realización preferida, el anticuerpo se liga a M-CSF con substancialmente la misma K_D como un anticuerpo que comprende una CDR2, y puede comprender opcionalmente una CDR1 y/o CDR3, de una región variable de la cadena liviana que tiene una secuencia de aminoácidos de la región V_L de SEQ ID NO: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 ó 60, ó que comprende una CDR3, y puede comprender opcionalmente una CDR1 y/o CDR2, de una región variable de cadena liviana que tiene una secuencia de aminoácidos de la región V_H de SEQ ID NO: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 ó 102.

180

[0149] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-M-CSF tiene una baja velocidad de disociación. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-M-CSF tiene una k_{off} de $2,0 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ o menor. En otras realizaciones preferidas, el anticuerpo se liga a M-CSF con una k_{on} de $2,0 \times 10^{-3}$ o una k_{off} de $2,0 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ o menor. En algunas realizaciones, la k_{off} es substancialmente la misma como la de un anticuerpo descrito en ésta, tal como un anticuerpo seleccionado entre 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1. En algunas realizaciones, el anticuerpo se liga a M-CSF con substancialmente la misma k_{off} como un anticuerpo que comprende (a) una CDR3, y puede comprender opcionalmente una CDR1 y/o CDR2, de una cadena pesada de un anticuerpo seleccionado entre 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1; o (b) una CDR2, y puede comprender opcionalmente una CDR1 y/o CDR3, de una cadena liviana de un anticuerpo seleccionado entre 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1. En algunas realizaciones, el anticuerpo se liga con M-CSF con substancialmente la misma k_{on} como un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 ó 102; o que comprende una región variable de cadena liviana que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 ó 60. En otra realización preferida, el anticuerpo se liga a M-CSF con substancialmente la misma k_{on} como un anticuerpo que comprende una CDR2, y puede comprender opcionalmente una CDR1 y/o CDR3, de una región variable de la cadena liviana que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 ó 60; ó una CDR3, y puede comprender opcionalmente una CDR1 y/o

278
181

CDR2, de una región variable de la cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 ó 102.

[0150] La afinidad de ligadura y la velocidad de disociación de un anticuerpo anti-M-CSF con un M-CSF pueden determinarse mediante métodos conocidos por el arte. La afinidad de ligadura puede medirse mediante ensayos competitivos ELISAs, RIAs, resonancia en la superficie de un plasmón (N. del T.: plasmón = una placa metálica delgada que se recubre con la sustancia a determinar) (por ejemplo, usando la tecnología BIACORE™). La velocidad de disociación puede medirse mediante resonancia en la superficie de un plasmón (surface plasmon resonance). Preferentemente, la afinidad de ligadura y la velocidad de disociación se miden mediante resonancia en la superficie de un plasmón. Más preferentemente, la afinidad de ligadura y la velocidad de disociación se miden usando la tecnología BIACORE™. El Ejemplo VI ejemplifica un método para determinar constantes de afinidad de anticuerpos monoclonales anti-M-CSF mediante tecnología BIACORE™.

Inhibición de la actividad M-CSF mediante un anticuerpo anti-M-CSF

Inhibición de la ligadura de M-CSF a c-fms

[0151] En otra realización, la invención provee un anticuerpo anti-M-CSF que inhibe la ligadura de un M-CSF al receptor *c-fms* y bloquea o previene la activación de *c-fms*. En una realización preferida, el M-CSF es un humano. En otra realización preferida, el anticuerpo anti-M-CSF es un anticuerpo humano. La IC₅₀ puede medirse mediante ELISA, RIA y ensayos basados en células tales como un ensayo de proliferación celular, un ensayo de cambio de forma de monocitos de la sangre o un ensayo de inhibición de ligadura al receptor. En una realización, el anticuerpo o una porción del mismo inhibe la proliferación celular con una IC₅₀ no mayor de $8,0 \times 10^{-7}$ M, preferentemente no mayor de 3×10^{-7} M, o más preferentemente no mayor de 8×10^{-8} M, según lo medido mediante un ensayo de proliferación celular. En otra realización, la IC₅₀ medida mediante un ensayo de cambio de forma de monocitos no es mayor de 2×10^{-6} M, preferentemente no mayor de $9,0 \times 10^{-7}$ M, o más preferentemente no mayor de 9×10^{-8} M. En otra realización preferida, la IC₅₀ medida por un ensayo de ligadura al receptor no es

182

mayor de 2×10^{-6} M, preferentemente no mayor de $8,0 \times 10^{-7}$ M, o más preferentemente no mayor de $7,0 \times 10^{-8}$ M. Los ejemplos III, IV y V ejemplifican varios tipos de ensayos.

[0152] En otro aspecto, los anticuerpos anti-M-CSF de la invención inhiben la proliferación celular de monocitos/macrófagos en respuesta a un M-CSF en al menos 20%, más preferentemente 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% en comparación con la proliferación celular en la ausencia del anticuerpo.

Métodos para producir anticuerpos y líneas celulares que producen anticuerpos

Inmunización

[0153] En algunas realizaciones, los anticuerpos humanos se producen mediante la inmunización de un animal no humano que comprende en su genoma algunos o todos los loci de la cadena pesada y cadena liviana de la inmunoglobulina humana con un antígeno M-CSF. En una realización preferida, el animal no humano es una animal XENOMOUSE™ (Abgenix Inc., Fremont, CA). Otro animal no humano que puede usarse es un ratón transgénico producido por Medarex (Medarex, Inc., Princeton, NJ).

[0154] Los ratones XENOMOUSE™ son cepas de ratón producidas por ingeniería genética que comprenden grandes fragmentos de loci de cadenas pesadas y cadenas livianas de la inmunoglobulina humana y son deficientes para la producción de anticuerpos de ratón. Vea, por ejemplo, Green *et al.*, *Nature Genetics* 7:13-21 (1994) y Patentes U.S. 5.916.771, 5.939.598, 5.985.615, 5.998.209, 6.075.181, 6.091.001, 6.114.598, 6.130.364, 6.162.963 y 6.150.584. Vea también WO 91/10741, WO 94/02602, WO 96/34096, WO 96/33735, WO 98/16654, WO 98/24893, WO 98/50433, WO 99/45031, WO 99/53049, WO 00/09560 y WO 00/037504.

[0155] En otro aspecto, la invención provee un método para fabricar anticuerpos anti-M-CSF a partir de animales no ratón, no humanos mediante la inmunización de animales transgénicos no humanos que comprenden loci de inmunoglobulina humana con un antígeno M-CSF. Tales animales pueden producirse usando los métodos descritos en los documentos arriba citados. Los métodos revelados en estos documentos pueden ser modificados según lo descrito en la Patente U.S.

80
183

5.994.619. La patente U.S. 5.994.619 describe métodos para producir nuevas células y líneas celulares de masa celular interior (CICM) cultivadas, derivadas de cerdos y vacas, y células CICM transgénicas en las cuales ha sido insertado DNA heterólogo. Las células CICM transgénicas pueden usarse para producir embriones, fetos y progenie transgénicos clonados. La patente '619 también describe los métodos para producir animales transgénicos capaces de transmitir el DNA heterólogo a su progenie. En realizaciones preferidas, los animales no humanos son ratas, ovejas, cerdos, cabras, ganado vacuno o caballos.

[0156] Los ratones XENOMOUSE™ producen un repertorio de anticuerpos completamente humanos similares a los de humanos adultos y generan anticuerpos humanos antígeno-específicos. En algunas realizaciones, los ratones XENOMOUSE™ contienen aproximadamente 80% del repertorio de genes V del anticuerpo humano, mediante la introducción de fragmentos del cromosoma artificial de levadura (YAC) con configuración de la línea germinal del tamaño megabase de los loci de cadena pesada humana y los loci de cadena liviana kappa. En otras realizaciones, los ratones XENOMOUSE™ contienen además aproximadamente todo el locus de la cadena liviana lambda. Vea Mendez *et al.*, *Nature Genetics* 15:146-156 (1997), Green y Jakobovits, *J. Exp. Med.* 188:483-495 (1998), y WO 98/24893, cuyas revelaciones están incorporadas en ésta por referencia.

[0157] En algunas realizaciones, los animales no humanos que comprenden genes de inmunoglobulina humana son animales que tienen un "minilocus" de inmunoglobulina humana. En el enfoque de minilocus, se mimetiza un locus de Ig exógena mediante la inclusión de genes individuales del locus de la Ig. De este modo, uno o más genes V_H, uno o más genes D_H, uno o más genes J_H, un dominio constante mu y un segundo dominio constante (preferentemente un dominio constante gamma) son conformados en una construcción para la inserción en un animal. Este enfoque se describe, *inter alia*, en las Patentes U.S. Nos. 5.545.807, 5.545.806, 5.569.825, 5.625.126, 5.633.425, 5.661.016, 5.770.429, 5.789.650, 5.814.318, 5.591.669, 5.612.205, 5.721.367, 5.789.215 y 5.643.763, incorporadas en ésta por referencia.

[0158] En otro aspecto, la invención provee un método para fabricar anticuerpos

87
184

anti-M-CSF humanizados. En algunas realizaciones, animales no humanos se inmunizan con un antígeno M-CSF, según lo descrito más abajo, bajo condiciones que permiten la producción de anticuerpos. Las células que producen anticuerpos se aíslan de los animales, se fusionan con mielomas para producir hibridomas, y se aíslan ácidos nucleicos que codifican las cadenas pesada y liviana de un anticuerpo anti-M-CSF de interés. Subsecuentemente, estos ácidos nucleicos se producen mediante ingeniería genética usando técnicas conocidas por los entendidos en el arte y descritas más abajo, con el fin de reducir la cantidad de secuencias no humanas, es decir, para humanizar el anticuerpo con el fin de reducir la respuesta inmune en humanos.

[0159] En algunas realizaciones, el antígeno M-CSF es un M-CSF aislado y/o purificado. En una realización preferida, el antígeno M-CSF es un M-CSF humano. En algunas realizaciones, el antígeno M-CSF es un fragmento de M-CSF. En algunas realizaciones, el fragmento M-CSF es el dominio extracelular de M-CSF. En algunas realizaciones, el fragmento M-CSF comprende al menos un epítipo de M-CSF. En otras realizaciones, el antígeno M-CSF es una célula que expresa o sobreexpresa M-CSF o un fragmento inmunogénico del mismo sobre su superficie. En algunas realizaciones, el antígeno M-CSF es una proteína de fusión de M-CSF. El M-CSF puede ser purificado a partir de fuentes naturales usando técnicas conocidas. El M-CSF recombinante está disponible comercialmente.

[0160] La inmunización de animales puede efectuarse mediante cualquier método conocido en el arte. Vea, por ejemplo, Harlow y Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Press, 1990. Métodos para inmunizar animales no humanos tales como ratones, ratas, ovejas, cabras, cerdos, ganado vacuno y caballos son bien conocidos en el arte. Vea, por ejemplo, Harlow y Lane, *supra*, y Patente U.S. 5.994.619. En una realización preferida, el antígeno M-CSF se administra con un adyuvante para estimular la respuesta inmune. Adyuvantes típicos incluyen al adyuvante de Freund completo o incompleto, RIBI (dideptidos de muramilo) o ISCOM (complejos inmunestimulantes). Tales adyuvantes pueden proteger al polipéptido de una dispersión rápida, secuestrándolo en un depósito local, o pueden contener sustancia que estimulan al hospedante para segregar factores que son quimiotácticos para macrófagos y otros

82
185

componentes del sistema inmune. Preferentemente, cuando se administra un polipéptido, el plan de inmunización implicará dos o más administraciones del polipéptido repartidas en varias semanas. El Ejemplo I ejemplifica un método para producir anticuerpos monoclonales anti-M-CSF en ratones XENOMOUSE™.

Producción de anticuerpos y líneas celulares que producen anticuerpos

[0161] Después de la inmunización de un animal con un antígeno M-CSF, pueden obtenerse del animal anticuerpos y/o células que producen anticuerpos. En algunas realizaciones, se obtiene del animal un suero que contiene el anticuerpo anti-M-CSF desangrando o sacrificando al animal. El suero puede usarse tal como se obtiene del animal, puede obtenerse una fracción de inmunoglobulina del mismo o pueden purificarse anticuerpos anti-M-CSF del suero.

[0162] En algunas realizaciones, se preparan líneas celulares immortalizadas que producen anticuerpos a partir de células aisladas del animal inmunizado. Después de la inmunización, el animal se sacrifica y se immortalizan células B del nodo linfático y/o bazo. Los métodos para immortalizar células incluyen, pero no están limitados a, transfectar las células con oncogenes, infectarlas con un virus oncogénico, cultivarlas bajo condiciones selectivas para células immortalizadas, someterlas a compuestos carcinogénicos o mutantes, fusionarlas con una célula immortalizada, por ejemplo, una célula de mieloma, e inactivar un gen supresor de tumores. Vea, por ejemplo, Harlow y Lane, *supra*. Cuando se usa fusión con células de mieloma, las células de mieloma preferentemente no segregan polipéptidos de inmunoglobulina (una línea celular no secretoria). Las células immortalizadas se rastrean usando M-CSF, una porción del mismo o una célula que expresa M-CSF. En una realización preferida, la selección inicial se realiza usando un inmunoensayo ligado a enzima (ELISA) o un radioinmunoensayo. Un ejemplo de rastreo con ELISA se provee en WO 00/37504, incorporado en ésta por referencia.

[0163] Las células que producen anticuerpos anti-M-CSF, por ejemplo, hibridomas, son seleccionadas, clonadas y rastreadas adicionalmente para obtener características deseables, incluyendo crecimiento robusto, elevada producción de anticuerpos y características deseables del anticuerpo, según lo discutido más abajo. Los hibridomas pueden expandirse *in vivo* en animales singénicos, en

183
186

animales que carecen de un sistema inmune, por ejemplo, ratones desnudos, o en un cultivo celular *in vitro*. Métodos de selección, clonación y expansión de hibridomas son bien conocidos por los entendidos en el arte.

[0164] En una realización preferida, el animal inmunizado es un animal no humano que expresa genes de inmunoglobulina humana, y las células B del bazo se fusionan con una línea celular de mieloma de la misma especie del animal no humano. En una realización más preferida, el animal inmunizado es un animal XENOMOUSE™ y la línea celular del mieloma es un mieloma de ratón no secretorio. En una realización aún más preferida, la línea celular del mieloma es P3-X63-AG8-653. Vea, por ejemplo, Ejemplo I.

[0165] Por lo tanto, en una realización, la invención provee métodos para producir una línea celular que produce un anticuerpo monoclonal humano o un fragmento del mismo dirigido a M-CSF, métodos que comprenden (a) inmunizar un animal transgénico no humano descrito en ésta con M-CSF, una porción de M-CSF o una célula o tejido que expresa M-CSF; (b) esperar que el animal transgénico tenga una respuesta inmune a M-CSF; (c) aislar linfocitos B de un animal transgénico; (d) immortalizar los linfocitos B; (e) crear poblaciones monoclonales individuales de los linfocitos B immortalizados; y (f) rastrear los linfocitos B immortalizados para identificar un anticuerpo dirigido a M-CSF.

[0166] En otro aspecto, la invención provee hibridomas que producen un anticuerpo anti-M-CSF humano. En una realización preferida, los hibridomas son hibridomas de ratón, según lo descrito anteriormente. En otras realizaciones, los hibridomas se producen en una especie no humana, no ratón, tales como ratas, ovejas, cerdos, cabras, vacunos o caballos. En otra realización, los hibridomas son hibridomas humanos.

[0167] En otra realización preferida, se inmuniza un animal transgénico con M-CSF, se aíslan células primarias, por ejemplo, células del bazo o de sangre periférica del animal transgénico inmunizado y se identifican células individuales que producen anticuerpos específicos para el antígeno deseado. De cada célula individual se aísla mRNA poliadenilado y se realiza reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) con transcripción inversa, usando cebadores sentido que hibridan con secuencias de la región variable, por ejemplo, cebadores degenerados

que reconocen la mayoría o todas las regiones FR1 de genes del dominio variable de cadena pesada y liviana humana, y cebadores antisentido que hibridan con secuencias de región constante o flanqueante. Luego, cDNAs de las regiones variables de cadena pesada y liviana se clonan y se expresan en cualquier célula hospedante adecuada, por ejemplo, una célula de mieloma, como anticuerpos quiméricos con regiones constantes de la inmunoglobulina respectiva, tales como la cadena pesada y dominios constantes κ ó λ . Vea Babcock, J.S. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:7843-48, 1996, incorporados en ésta por referencia. Luego, los anticuerpos anti-M-CSF pueden identificarse y aislarse según lo descrito en ésta.

[0168] En otra realización, pueden usarse técnicas de exhibición en fagos para proveer bibliotecas que contienen un repertorio de anticuerpos con afinidades variadas para M-CSF. Para la producción de tales repertorios, no es necesario immortalizar las células B del animal inmunizado. Más bien, las células B primarias pueden usarse directamente como fuente de DNA. La mezcla de cDNAs obtenida a partir de células B, por ejemplo, derivada de bazo, se usa para preparar una biblioteca de expresión, por ejemplo, una biblioteca de exhibición en fagos transfectada en *E. coli*. Las células resultantes se ensayan por inmunoreactividad a M-CSF. Las técnicas para la identificación de anticuerpos humanos de alta afinidad a partir de tales bibliotecas se describen en Griffiths *et al.*, *EMBO J.*, 13:3245-3260 (1994); Nissim *et al.*, *ibid*, pp. 692-698 y por Griffiths *et al.*, *ibid*, 12:725-734. Finalmente, se identifican clones de la biblioteca que producen afinidades de ligadura de una magnitud deseada para el antígeno y se recupera el DNA que codifica el producto responsable para tal ligadura, DNA que se manipula para expresión recombinante estándar. También pueden construirse bibliotecas de exhibición en fagos usando secuencias nucleotídicas previamente manipuladas y rastreadas de un modo similar. Generalmente, los cDNAs que codifican cadenas pesadas y livianas se proveen en forma independiente o ligados para formar análogos del gen Fv para la producción en la biblioteca de fagos.

[0169] Luego, la biblioteca de fagos se rastrea por los anticuerpos con las afinidades mayores para M-CSF y se recupera el material genético del clon apropiado. Ciclos adicionales de rastreo pueden aumentar la afinidad del anticuerpo original aislado.

188

[0170] En otro aspecto, la invención provee hibridomas que producen un anticuerpo anti-M-CSF humano. En una realización preferida, los hibridomas son hibridomas de ratón, según lo descrito anteriormente. En otras realizaciones, los hibridomas se producen en una especie no humana, no ratón, tales como ratas, ovejas, cerdos, cabras, vacunos o caballos. En otra realización, los hibridomas son hibridomas humanos.

Ácidos nucleicos, vectores, células hospedantes y métodos recombinantes para fabricar anticuerpos

Ácidos nucleicos

[0171] La presente invención también comprende moléculas de ácido nucleico que codifican anticuerpos anti-M-CSF. En algunas realizaciones, diferentes moléculas de ácido nucleico codifican una cadena pesada y una cadena liviana de una inmunoglobulina anti-M-CSF. En otras realizaciones, la misma molécula de ácido nucleico codifica una cadena pesada y una cadena liviana de una inmunoglobulina anti-M-CSF. En una realización, el ácido nucleico codifica un anticuerpo anti-M-CSF de la invención.

[0172] En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico que codifica el dominio variable de la cadena liviana comprende un gen V_L L5, O12, L2, B3, A27 humano y un gen Jk1, Jk2, Jk3 o Jk4.

[0173] En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico que codifica la cadena liviana codifica una secuencia de aminoácidos que comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 mutaciones de la secuencia de aminoácidos de la línea germinal. En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia nucleotídica que codifica una secuencia de aminoácidos V_L que comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 substituciones con aminoácidos conservativos y/o 1, 2 ó 3 substituciones no conservativas en comparación con la secuencia de la línea germinal. Las substituciones pueden encontrarse en las regiones CDR, las regiones framework o en el dominio constante.

[0174] En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácidos V_L que comprende una o más variantes en comparación con la secuencia de la línea germinal que son idénticas a las variaciones encontradas en la V_L de uno de los anticuerpos 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1,

9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1.

[0175] En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico codifica al menos tres mutaciones de aminoácidos en comparación con la secuencia de la línea germinal encontrada en la V_L de uno de los anticuerpos 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4, 8.10.3, ó 9.7.2.

[0176] En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia nucleotídica que codifica la secuencia de aminoácidos V_L del anticuerpo monoclonal 252 (SEQ ID NO: 4), 88 (SEQ ID NO: 8), 100 (SEQ ID NO: 12), 3.8.3 (SEQ ID NO: 16), 2.7.3 (SEQ ID NO: 20), 1.120.1 (SEQ ID NO: 24), 9.14.4I (SEQ ID NO: 28), 8.10.3F (SEQ ID NO: 32), 9.7.2IF (SEQ ID NO: 36), 9.14.4 (SEQ ID NO: 28), 8.10.3 (SEQ ID NO: 44), 9.7.2 (SEQ ID NO: 48), 9.7.2C-Ser (SEQ ID NO: 52), 9.14.4C-Ser (SEQ ID NO: 56), 8.10.3C-Ser (SEQ ID NO: 60), 8.10.3-CG2 (SEQ ID NO: 60), 9.7.2-CG2 (SEQ ID NO: 52), 9.7.2-CG4 (SEQ ID NO: 52), 9.14.4-CG2 (SEQ ID NO: 56), 9.14.4-CG4 (SEQ ID NO: 56), 9.14.4-Ser (SEQ ID NO: 28), 9.7.2-Ser (SEQ ID NO: 48), 8.10.3-Ser (SEQ ID NO: 44), 8.10.3-CG4 (SEQ ID NO: 60), 8.10.3FG1 (SEQ ID NO: 32) ó 9.14.4G1 (SEQ ID NO: 28), o una porción del mismo. En algunas realizaciones, dicha porción comprende al menos la región CDR2. En algunas realizaciones, el ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de las CDRs de la cadena liviana de dicho anticuerpo. En algunas realizaciones, dicha porción es una porción contigua que comprende CDR1-CDR3.

[0177] En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia nucleotídica que codifica la secuencia de aminoácidos de cadena liviana de una de SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 ó 60. En algunas realizaciones preferidas, la molécula de ácido nucleico comprende la secuencia nucleotídica de la cadena liviana de SEQ ID NOS: 3, 7, 11, 27, 31, 35, 43 ó 47, o una porción de la misma.

[0178] En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácidos V_L que es al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia de aminoácidos V_L mostrada en la

Figura 1 o a una secuencia de aminoácidos V_L de cualquiera de los anticuerpos 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1, o a una secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 ó 60. Las moléculas de ácido nucleico de la invención incluyen ácidos nucleicos que hibridan bajo condiciones altamente exigentes, tales como aquellas descritas precedentemente, con una secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de cadena liviana de SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 ó 60 ó que tiene la secuencia de ácido nucleico de la cadena liviana de SEQ ID NOS: 3, 7, 11, 27, 31, 35, 43 ó 47.

[0179] En otra realización, el ácido nucleico codifica una cadena liviana de longitud completa de un anticuerpo seleccionado entre 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1, o una cadena liviana que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 ó 60 y una región constante de una cadena liviana, o una cadena liviana que comprende una mutación. Además, el ácido nucleico puede comprender la secuencia nucleotídica de cadena liviana de SEQ ID NOS: 3, 7, 11, 27, 31, 35, 43 ó 47 y la secuencia nucleotídica que codifica una región constante de una cadena liviana, o una molécula de ácido nucleico que codifica una cadena liviana que comprende una mutación.

[0180] En otra realización preferida, la molécula de ácido nucleico codifica el dominio variable de la cadena pesada (V_H) que comprende una secuencia del gen V_H 1-18, 3-33, 3-11, 3-23, 3-48 ó 3-7 humano o una secuencia derivada del mismo. En varias realizaciones, la molécula de ácido nucleico comprende un gen V_H 1-18 humano, un gen D_H4-23 humano y un gen J_H4 humano; un gen V_H 3-33 humano, un gen D_H1-26 humano y un gen J_H4 humano; un gen V_H 3-11 humano, un gen D_H7-27 humano y un gen J_H4 humano; un gen V_H 3-11 humano, un gen D_H 7-27 humano y un gen J_H6 humano; un gen V_H 3-23 humano, un gen D_H1-26 humano y

88
191

un gen J_H4 humano; un gen V_H 3-7 humano, un gen D_H6-13 humano y un gen J_H4 humano; un gen V_H3-11 humano, un gen D_H7-27 humano, y un gen J_H4b humano; un gen V_H3-48 humano, un gen D_H1-26 humano, y un gen J_H4b humano; un gen V_H3-11 humano, un gen D_H6-13 humano, y un gen J_H6b humano, o una secuencia derivada de los genes humanos.

[0181] En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácidos que comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 ó 18 mutaciones en comparación con la secuencia de aminoácidos de la línea germinal de los genes V, D o J humanos. En algunas realizaciones, dichas mutaciones se encuentran en la región V_H. En algunas realizaciones, dichas mutaciones se encuentran en las regiones CDR.

[0182] En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico codifica una o más mutaciones de aminoácidos en comparación con la secuencia de la línea germinal que son idénticas a mutaciones de aminoácidos encontradas en la V_H del anticuerpo monoclonal 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1. En algunas realizaciones, el ácido nucleico codifica al menos tres mutaciones de aminoácidos en comparación con las secuencias de la línea germinal que son idénticas a al menos tres mutaciones de aminoácidos encontradas en uno de los anticuerpos monoclonales arriba enumerados.

[0183] En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia nucleotídica que codifica al menos una porción de la secuencia de aminoácidos V_H del anticuerpo 252 (SEQ ID NO: 4), 88 (SEQ ID NO: 8), 100 (SEQ ID NO: 12), 3.8.3 (SEQ ID NO: 16), 2.7.3 (SEQ ID NO: 20), 1.120.1 (SEQ ID NO: 24), 9.14.4I (SEQ ID NO: 28), 8.10.3F (SEQ ID NO: 32), 9.7.2IF (SEQ ID NO: 36), 9.14.4 (SEQ ID NO: 28), 8.10.3 (SEQ ID NO: 44), 9.7.2 (SEQ ID NO: 48), 9.7.2C-Ser (SEQ ID NO: 52), 9.14.4C-Ser (SEQ ID NO: 56), 8.10.3C-Ser (SEQ ID NO: 60), 8.10.3-CG2 (SEQ ID NO: 60), 9.7.2-CG2 (SEQ ID NO: 52), 9.7.2-CG4 (SEQ ID NO: 52), 9.14.4-CG2 (SEQ ID NO: 56), 9.14.4-CG4 (SEQ ID NO: 56), 9.14.4-Ser (SEQ ID NO: 28), 9.7.2-Ser (SEQ ID NO: 48), 8.10.3-Ser

(SEQ ID NO: 44), 8.10.3-CG4 (SEQ ID NO: 60), 8.10.3FG1 (SEQ ID NO: 32) ó 9.14.4G1 (SEQ ID NO: 28), o dicha secuencia que tiene mutaciones de aminoácidos conservativos y/o un total de tres o menos substituciones con aminoácidos no conservativos. En varias realizaciones, la secuencia codifica una o más regiones CDR, preferentemente una región CDR3, todas las tres regiones CDR, una porción contigua incluyendo CDR1-CDR3 o la región V_H entera.

[0184] En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia nucleotídica de cadena pesada que codifica la secuencia de aminoácidos de una de SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 ó 102. En algunas realizaciones preferidas, la molécula de ácido nucleico comprende al menos una porción de la secuencia nucleotídica de cadena pesada de SEQ ID NO: 1, 5, 9, 25, 29, 33, 37, 45, 97 ó 101. En algunas realizaciones, dicha porción codifica la región V_H, una región CDR3, todas las tres regiones CDR, o una región contigua que incluye CDR1-CDR3.

[0185] En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácidos V_H que es al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% ó 99% idéntica a las secuencias de aminoácidos V_H mostradas en la Figura 4 ó a una secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 ó 102. Las moléculas de ácido nucleico de la invención incluyen ácidos nucleicos que hibridan bajo condiciones altamente exigentes, tales como aquellas descritas precedentemente, con una secuencia nucleotídica que codifica la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 ó 102, o que tiene la secuencia nucleotídica de SEQ ID NOS: 1, 5, 9, 25, 29, 33, 37, 45, 97 ó 101.

[0186] En otra realización, el ácido nucleico codifica una cadena pesada de longitud completa de un anticuerpo seleccionado entre 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1, o una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 ó 102 y una

región constante de una cadena pesada, o una cadena pesada que comprende una mutación. Además, el ácido nucleico puede comprender la secuencia nucleotídica de cadena pesada de SEQ ID NOS: 1, 5, 9, 25, 29, 33, 37, 45, 97 ó 101 y una secuencia nucleotídica que codifica una región constante de una cadena liviana, o una molécula de ácido nucleico que codifica una cadena pesada que comprende una mutación.

[0187] Una molécula de ácido nucleico que codifica la cadena pesada o cadena liviana entera de un anticuerpo anti-M-CSF o porciones de la misma puede aislarse de cualquier fuente que produce tal anticuerpo. En varias realizaciones, las moléculas de ácido nucleico se aíslan de una célula B aislada de un animal inmunizado con M-CSF o de una célula immortalizada derivada de una célula B tal que expresa un anticuerpo anti-M-CSF. Métodos para aislar mRNA que codifica un anticuerpo son bien conocidos por el arte. Vea, por ejemplo, Sambrook *et al.* El mRNA puede usarse para producir cDNA a ser utilizado en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o en la clonación con cDNA de genes del anticuerpo. En una realización preferida, la molécula de ácido nucleico se aísla de un hibridoma que tiene como uno de sus compañeros de fusión una célula de un animal transgénico no humano que produce una inmunoglobulina humana. En una realización aún más preferida, la célula que produce inmunoglobulina humana se aísla de un animal XENOMOUSE™. En otra realización, la célula que produce inmunoglobulina humana es de un animal transgénico no humano, no ratón, según lo descrito precedentemente. En otra realización, el ácido nucleico se aísla de un animal no transgénico, no humano. Las moléculas de ácido nucleico aisladas de un animal no humano, no transgénico pueden usarse, por ejemplo, para anticuerpos humanizados.

[0188] En algunas realizaciones, un ácido nucleico que codifica una cadena pesada de un anticuerpo anti-M-CSF de la invención puede comprender una secuencia nucleotídica que codifica un dominio V_H de la invención unido en el marco de lectura con una secuencia nucleotídica que codifica un dominio constante de cadena pesada de cualquier fuente. Similarmente, una molécula de ácido nucleico que codifica una cadena liviana de un anticuerpo anti-M-CSF de la invención puede comprender una secuencia nucleotídica que codifica un dominio

191
194

V_L de la invención unida en el marco de lectura con una secuencia nucleotídica que codifica un dominio constante de cadena liviana de cualquier fuente.

[0189] En un aspecto adicional de la invención, las moléculas de ácido nucleico que codifican el dominio variable de las cadenas pesadas (V_H) y/o livianas (V_L) se "convierten" en genes del anticuerpo de longitud completa. En una realización, las moléculas de ácido nucleico que codifican los dominios V_H o V_L se convierten en genes del anticuerpo de longitud completa mediante la inserción en un vector de expresión que ya codifica dominios constantes de cadena pesada (C_H) o dominios constantes de cadena liviana (C_L), respectivamente, de modo que el segmento V_H se liga operativamente al segmento (a los segmentos) C_H dentro del vector, y el segmento V_L se liga operativamente al segmento C_L dentro del vector. En otra realización, moléculas de ácido nucleico que codifican los dominios V_H y/o V_L se convierten en genes del anticuerpo de longitud completa, enlazando, por ejemplo, ligando, una molécula de ácido nucleico que codifica dominios V_H y/o V_L con una molécula de ácido nucleico que codifica un dominio C_H y/o C_L, usando técnicas estándar de biología molecular. El arte conoce secuencias de ácido nucleico de genes del dominio constante de cadenas pesadas y livianas de la inmunoglobulina humana. Vea, por ejemplo, Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5^o Ed., NIH Publ. No. 91-3242, 1991. Luego, moléculas de ácido nucleico que codifican las cadenas pesadas y/o livianas de longitud completa pueden ser expresadas por una célula en la cual han sido introducidas y el anticuerpo anti-M-CSF puede ser aislado.

[0190] Las moléculas de ácido nucleico pueden usarse para expresar recombinantemente grandes cantidades de anticuerpos anti-M-CSF. Las moléculas de ácido nucleico también pueden usarse para producir anticuerpos quiméricos, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos de cadena simple, inmunoadhesinas, diacuerpos, anticuerpos mutados y derivados de anticuerpos, según lo descrito más abajo. Si las moléculas de ácido nucleico se derivan de un animal no humano, no transgénico, las moléculas de ácido nucleico pueden usarse para la humanización de anticuerpos, también según lo descrito más abajo.

[0191] En otra realización, se usa una molécula de ácido nucleico de la invención como sonda o cebador PCR para una secuencia específica del anticuerpo. Por

192
195

ejemplo, el ácido nucleico puede usarse como sonda en métodos diagnósticos o como cebador PCR para amplificar regiones de DNA que pueden ser usados, inter alia, para aislar moléculas de ácido nucleico adicionales que codifican dominios variables de anticuerpos anti-M-CSF. En algunas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico son oligonucleótidos. En algunas realizaciones, los oligonucleótidos pertenecen a regiones altamente variables de las cadenas pesadas y livianas del anticuerpo de interés. En algunas realizaciones, los oligonucleótidos codifican el total o una parte de una o más de las CDRs del anticuerpo 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3 ó 1.120.1 o variantes del mismo descritas en ésta.

Vectores

[0192] La invención provee vectores que comprenden moléculas de ácido nucleico que codifican la cadena pesada de un anticuerpo anti-M-CSF de la invención o una porción que liga antígeno del mismo. La invención también provee vectores que comprenden moléculas de ácido nucleico que codifican la cadena liviana de tales anticuerpos o porción que liga antígeno de los mismos. La invención provee además vectores que comprenden moléculas de ácido nucleico que codifican proteínas de fusión, anticuerpos modificados, fragmentos de anticuerpos y sondas de los mismos.

[0193] En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-M-CSF o las porciones que ligan antígeno de la invención se expresan insertando DNAs que codifican cadenas livianas y pesadas de longitud parcial o completa, obtenidos según lo descrito precedentemente, en vectores de expresión, de modo que los genes se ligan operativamente con secuencias de control de expresión necesarias tales como secuencias de control de transcripción y traducción. Los vectores de expresión incluyen plásmidos, retrovirus, adenovirus, virus adeno-asociados (AAV), virus de plantas tales como virus del mosaico de coliflor, virus del mosaico de tabaco, cósmidos, YACs, episomas derivados de EBV y similares. El gen del anticuerpo es ligado dentro de un vector de modo que secuencias de control de transcripción y traducción dentro del vector puedan ejercer su función de regular la transcripción y traducción del gen del anticuerpo. El vector de expresión y las secuencias de control de expresión se eligen de modo que sean compatibles con la célula hospedante usada para la expresión. El gen de la cadena liviana del anticuerpo y el

183
196

gen de la cadena pesada del anticuerpo pueden insertarse en vectores separados. En una realización preferida, ambos genes se insertan en el mismo vector de expresión. Los genes del anticuerpo se insertan en el vector de expresión mediante métodos estándar (por ejemplo, ligadura de sitios de restricción complementarios en el fragmento génico del anticuerpo y el vector, o ligadura con formación de extremos romos si no existen sitios de restricción).

[0194] Un vector conveniente es un vector que codifica una secuencia C_H o C_L funcionalmente completa de la inmunoglobulina humana, con sitios de restricción apropiados construidos por métodos de ingeniería genética de modo que cualquier secuencia V_H o V_L puede ser insertada y expresada fácilmente, según lo descrito precedentemente. En tales vectores, el corte y empalme se produce usualmente entre el sitio dador de corte y empalme en la región J insertada y el sitio aceptor de corte y empalme que precede el dominio C humano, y también se produce en las regiones de corte y empalme que existen dentro de los exones del C_H humano. La poliadenilación y terminación de la transcripción se producen en sitios cromosomales nativos corriente abajo de las regiones de codificación. El vector de expresión recombinante también puede codificar un péptido señal que facilita la secreción de la cadena del anticuerpo por una célula hospedante. El gen de la cadena del anticuerpo puede ser clonado en el vector de modo que el péptido señal sea ligado en el marco de lectura con el terminal amino de la cadena de inmunoglobulina. El péptido señal puede ser un péptido señal de inmunoglobulina o un péptido señal heterólogo (es decir, un péptido señal de una proteína que no sea una inmunoglobulina).

[0195] Además de los genes de la cadena del anticuerpo, los vectores de expresión recombinantes de la invención llevan secuencias regulatorias que controlan la expresión de los genes de la cadena del anticuerpo en una célula hospedante. Será apreciado por los entendidos en el arte que el diseño del vector de expresión, incluyendo la selección de secuencias regulatorias, puede depender de factores tales como la elección de la célula hospedante a ser transformada, el nivel de expresión deseado de la proteína, etc. Secuencias regulatorias preferidas para la expresión en células hospedantes mamíferas incluyen elementos virales que dirigen altos niveles de expresión de proteína en células mamíferas, tales como

194
197

promotoras y/o intensificadores derivados de secuencias largas terminales repetidas (LTRs) de retrovirus, citomegalovirus (CMV) (tal como el promotor/intensificador de CMV), Virus Simian 40 (SV40) (tal como el promotor/intensificador de SV40, adenovirus, (por ejemplo, el promotor principal tardío de adenovirus (adenovirus major late promoter = AdMLP)), polioma y promotores fuertes de mamíferos tales como promotores de inmunoglobulina natural y actina. Para una descripción adicional de elementos regulatorios virales y secuencias de los mismos vea, por ejemplo, las Patentes U.S. Nos. 5.168.062, 4.510.245 y 4.968.615. Los métodos para expresar anticuerpos en plantas, incluyendo una descripción de promotores y vectores, como así también los métodos para la transformación de plantas son conocidos por el arte. Vea, por ejemplo, la Patente U.S. 6.517.529, incorporada en ésta por referencia. Los métodos para expresar polipéptidos en células bacterianas o células fúngicas, por ejemplo, células de levadura, también son bien conocidos por el arte.

[0196] Además de genes de cadenas de anticuerpos y de secuencias regulatorias, los vectores de expresión recombinantes de la invención pueden llevar secuencias adicionales, tales como secuencias que regulan la replicación del vector en células hospedantes (por ejemplo, orígenes de replicación) y genes marcadores de selección. El gen marcador de selección facilita la selección de las células hospedantes en las cuales se introdujo el vector (vea, por ejemplo, Patentes U.S. Nos. 4.399.216, 4.634.665 y 5.179.017). Por ejemplo, típicamente el gen marcador de selección confiere resistencia a drogas, tales como G418, higromicina o metotrexato, en una célula hospedante en la cual se introdujo el vector. Genes marcadores de selección preferidos incluyen el gen dihidrofolato reductasa (DHFR) (a ser usado en células hospedantes dhfr con selección/amplificación de metotrexato), el gen de resistencia a neomicina (para la selección de G418) y el gen glutamato sintetasa.

Células hospedantes no híbridoma y métodos recombinantes para producir proteínas

[0197] Moléculas de ácido nucleico que codifican anticuerpos anti-M-CSF y vectores que comprenden estas moléculas de ácido nucleico pueden usarse para la transfección de una célula hospedante mamífera, vegetal, bacteriana o de levadura

adecuada. La transformación puede realizarse mediante cualquier método conocido para introducir polinucleótidos en una célula hospedante. Métodos para la introducción de polinucleótidos heterólogos en células mamíferas son bien conocidos por el arte e incluyen transfección mediada por dextrano, precipitación con fosfato de calcio, transfección mediada por polibreno, fusión de protoplasto, electroporación, encapsulación del (de los) polinucleótido(s) en liposomas, y microinyección directa del DNA en núcleos. Además, moléculas de ácido nucleico pueden introducirse en células mamíferas mediante vectores virales. Métodos para la transformación de células son bien conocidos por el arte. Vea, por ejemplo, Patentes U.S. Nos. 4.399.216, 4.912.040, 4.740.461 y 4.959.455 (patentes que son incorporadas en ésta por referencia). Métodos de transformación de células vegetales son bien conocidos por el arte, incluyendo, por ejemplo, transformación mediada por agrobacterium, transformación biolística, inyección directa, electroporación y transformación viral. Métodos para transformar células bacterianas y de levadura también son bien conocidos por el arte.

[0198] Líneas celulares mamíferas disponibles como hospedantes para la expresión son bien conocidas por el arte e incluyen muchas líneas celulares inmortalizadas disponibles en la colección American Type Culture Collection (ATCC). Estas líneas celulares incluyen, *inter alia*, células del ovario del hamster chino (Chinese hamster ovary (CHO) cells), células NSO, células SP2, células HeLa, células de riñón de la cría de hamster (baby hamster kidney (BHK) cells), células de riñón de mono verde africano (COS), células del carcinoma hepatocelular humano (por ejemplo, Hep G2), células A549 y un número de otras líneas celulares. Líneas celulares de preferencia particular se seleccionan determinando aquellas líneas celulares que tienen elevados niveles de expresión. Otras líneas celulares que pueden usarse son líneas celulares de insectos, tales como células Sf9. Cuando se introducen vectores de expresión recombinantes que codifican genes de anticuerpos en células hospedantes mamíferas, los anticuerpos son producidos cultivando las células hospedantes durante un período de tiempo suficiente para permitir la expresión del anticuerpo en las células hospedantes o, más preferentemente, mediante la secreción del anticuerpo en el medio del cultivo en el cual se cultivan las células hospedantes. Los anticuerpos pueden recuperarse

199

del medio de cultivo usando métodos estándar para la purificación de proteínas. Células vegetales hospedantes incluyen, por ejemplo, *Nicotiana*, *Arabidopsis*, lenteja de agua (duckweed), malz, trigo, papa, etc. Células hospedantes bacterianas incluyen las especies *E. coli* y *Streptomyces*. Células hospedantes de levadura incluyen *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia pastoris*.

[0199] Además, la expresión de anticuerpos de la invención (u otros grupos funcionales de los mismos) de líneas celulares de producción puede intensificarse usando varias técnicas conocidas. Por ejemplo, el sistema de expresión de genes con glutamina sintetasa (el sistema GS) es un enfoque común para aumentar la expresión bajo ciertas condiciones. El sistema GS se discute total o parcialmente en conexión con las Patentes Europeas Nos. 0 216 846, 0 256 055 y 0 323 997 y la Solicitud de Patente Europea No. 89303964.4.

[0200] Es posible que anticuerpos expresados por diferentes líneas celulares o en animales transgénicos tendrán una glicosilación diferente entre sí. Sin embargo, todos los anticuerpos codificados por las moléculas de ácido nucleico provistas en ésta, o que comprenden las secuencias de aminoácidos provistas en ésta, forman parte de la presente invención, independientemente del estado de glicosilación o estructura o modificación de los anticuerpos.

Animales y plantas transgénicos

[0201] Los anticuerpos anti-M-CSF de la invención también pueden producirse transgénicamente mediante la generación de un mamífero o planta que es transgénico para las secuencias de cadena pesada y liviana de la inmunoglobulina de interés y la producción del anticuerpo en una forma recuperable del mismo. En conexión con la producción transgénica en mamíferos, anticuerpos anti-M-CSF pueden producirse en, y recuperarse de, la leche de cabras, vacas u otros mamíferos. Veá, por ejemplo, Patentes U.S. Nos. 5.827.690, 5.756.687, 5.750.172 y 5.741.957. En algunas realizaciones, animales no humanos transgénicos que comprenden loci de inmunoglobulina humana se inmunizan con M-CSF o una porción inmunogénica del mismo, según lo descrito precedentemente. Métodos para producir anticuerpos en plantas, levaduras u hongos/algas se describen, por ejemplo, en las patentes US 6.046.037 y US 5.959.177.

200

[0202] En algunas realizaciones, animales no humanos transgénicos o plantas son producidos mediante la introducción de uno o más moléculas de ácido nucleico que codifican el anticuerpo anti-M-CSF de la invención en el animal o planta mediante técnicas transgénicas estándar. Vea Hogan y la Patente de Estados Unidos 6.417.429, *supra*. Las células transgénicas usadas para hacer el animal transgénico pueden ser células madre embrionarias o células somáticas. Los organismos transgénicos no humanos pueden ser quiméricos, heterocigotas no quiméricos y homocigotas no quiméricos. Vea, por ejemplo, Hogan *et al.*, *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual* 2nd ed., Cold Spring Harbor Press (1999); Jackson *et al.*, *Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach*, Oxford University Press (2000); y Pinkert, *Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook*, Academic Press (1999). En algunas realizaciones, los animales transgénicos no humanos tienen una ruptura dirigida y reemplazo mediante una construcción dirigida a un objetivo que codifica una cadena pesada y/o una cadena liviana de interés. En una realización preferida, los animales transgénicos comprenden y expresan moléculas de ácido nucleico que codifican cadenas pesadas y livianas que se ligan específicamente a M-CSF, preferentemente M-CSF humano. En algunas realizaciones, los animales transgénicos comprenden moléculas de ácido nucleico que codifican un anticuerpo modificado tal como un anticuerpo de cadena simple, un anticuerpo quimérico o un anticuerpo humanizado. Los anticuerpos anti-M-CSF pueden fabricarse en cualquier animal transgénico. En una realización preferida, los animales no humanos son ratones, ratas, ovejas, cerdos, cabras, ganado vacuno o caballos. Los animales transgénicos no humanos expresan dichos polipéptidos codificados en sangre, leche, orina, saliva, lágrimas, moco y otros fluidos corporales.

Bibliotecas de exhibición en fagos

[0203] La invención provee un método para producir un anticuerpo anti-M-CSF o una porción que liga antígeno del mismo que comprende las etapas de sintetizar una biblioteca de anticuerpos humanos en fagos, rastrear la biblioteca con M-CSF o una porción del mismo, aislar el fago que liga M-CSF y obtener el anticuerpo del fago. A modo de ejemplo, un método para preparar la biblioteca de anticuerpos para uso en técnicas de exhibición en fagos comprende las etapas de inmunizar un

148
201

animal no humano que contiene loci de inmunoglobulina humana con M-CSF o una porción antigénica del mismo para crear una respuesta inmune, extraer células que producen anticuerpos del animal inmunizado; aislar de las células extraídas RNA, someter el RNA a transcripción inversa para producir cDNA, amplificar el cDNA usando un cebador, e insertar el cDNA en un vector de exhibición en fagos, de modo que los anticuerpos sean expresados en el fago. De este modo pueden obtenerse anticuerpos anti-M-CSF recombinantes de la invención.

[0204] Los anticuerpos recombinantes anti-M-CSF de la invención pueden aislarse rastreando una biblioteca combinatoria de anticuerpos recombinantes. Preferentemente, la biblioteca es una biblioteca que exhibe en fagos scFv, generada usando cDNAs de V_L y V_H humanos preparados a partir de mRNA aislado de células B. Las metodologías para preparar y rastrear tales bibliotecas son conocidos por el arte. Equipos para generar bibliotecas que exhiben en fagos están comercialmente disponibles (por ejemplo, el sistema de anticuerpos recombinantes en fagos Pharmacia (Pharmacia Recombinant Phage Antibody System), número de catálogo 27-9400-01; y el equipo de exhibición en fagos Stratagene SurfZAP™, número de catálogo 240612). También existen otros métodos y reactivos que pueden usarse para generar y rastrear bibliotecas que exhiben anticuerpos (vea, por ejemplo, Patente U.S. No. 5.223.409; Publicación PCT Nos. WO 92/18619, WO 91/17271, WO 92/20791, WO 92/15679, WO 93/01288, WO 92/01047, WO 92/09690; Fuchs *et al.*, *Bio/Technology* 9:1370-1372 (1991); Hay *et al.*, *Hum. Antibod. Hybridomas* 3:81-85 (1992); Huse *et al.*, *Science* 246:1275-1281 (1989); McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-554 (1990); Griffiths *et al.*, *EMBO J.* 12:725-734 (1993); Hawkins *et al.*, *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992); Clackson *et al.*, *Nature* 352:624-628 (1991); Gram *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:3576-3580 (1992); Garrad *et al.*, *Bio/Technology* 9:1373-1377 (1991); Hoogenboom *et al.*, *Nuc. Acids Res.* 19:4133-4137 (1991); y Barbas *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:7978-7982 (1991).

[0205] En una realización, para aislar un anticuerpo anti-M-CSF humano con las características deseadas, primero se usa un anticuerpo anti-M-CSF humano como descrito en ésta para seleccionar secuencias de cadenas pesadas y livianas humanas que tengan una actividad de ligadura similar hacia M-CSF, usando métodos de imprinting de epítopes descritos en la publicación PCT No. WO 93/06213. Las bibliotecas de anticuerpos usadas

~~102~~
102

en este método son preferentemente bibliotecas en scFv preparadas y rastreadas según lo descrito en la publicación PCT No. WO 92/01047, McCafferty et al., *Nature* 348:552-554 (1990); y Griffiths et al., *EMBO J.* 12:725-734 (1993). Las bibliotecas de anticuerpos en scFv son rastreadas preferentemente usando como antígeno M-CSF humano.

[0206] Una vez seleccionados dominios V_L y V_H iniciales humanos, se realizan experimentos de "mix and match" ("mezclar y unir"), en los cuales se rastrean diferentes pares de los segmentos V_L y V_H inicialmente seleccionados para la ligadura con M-CSF, para seleccionar combinaciones preferidas de pares V_L/V_H . Adicionalmente, para mejorar aún más la calidad del anticuerpo, los segmentos V_L y V_H del (de los) par(es) preferido(s) V_L/V_H pueden ser sometidos a mutación aleatoria, preferentemente dentro de la región CDR3 del V_H y/o V_L , en un proceso análogo al proceso de mutación somática *in vivo* responsable por la maduración de la afinidad de anticuerpos durante una respuesta inmune natural. Esta maduración de la afinidad *in vitro* puede lograrse mediante la amplificación de dominios V_H y V_L usando cebadores PCR complementarios a la CDR3 del V_H o CDR3 del V_L , respectivamente, cebadores que han sido "spiked" con (a los cuales se ha agregado) una mezcla aleatoria de las cuatro bases nucleotídicas en ciertas posiciones, de modo que los productos PCR resultantes codifiquen segmentos V_H y V_L en los cuales han sido introducidas mutaciones aleatorias en las regiones CDR3 del V_H y/o CDR3 del V_L . Estos segmentos V_H y V_L sometidos a mutación aleatoria pueden rastrearse nuevamente para la ligadura con M-CSF.

[0207] Después de la selección y aislación de un anticuerpo anti-M-CSF de la invención a partir de una biblioteca que exhibe inmunoglobulina recombinante, los ácidos nucleicos que codifican el anticuerpo seleccionado pueden recuperarse del paquete de exhibición (display package) (por ejemplo, del genoma del fago) y subclonarse en otros vectores de expresión mediante técnicas de DNA recombinante estándar. Si deseado, el ácido nucleico puede ser sometido a manipulación adicional para crear otras formas del anticuerpo de la invención, según lo descrito más abajo. Para expresar un anticuerpo humano recombinante aislado mediante el rastreo de una biblioteca combinatoria, el DNA que codifica el anticuerpo es clonado en un vector de expresión recombinante e introducido en células hospedantes mamíferas según lo descrito precedentemente.

Comutación de clases

[0208] Otro aspecto de la invención provee un método para convertir la clase o subclase de un anticuerpo anti-M-CSF en otra clase o subclase. En algunas realizaciones, se aísla una molécula de ácido nucleico que codifica un V_L o V_H que no incluye secuencias de ácido nucleico cualesquiera que codifiquen C_L o C_H usando métodos bien conocidos por el arte. Luego, la molécula de ácido nucleico se liga operativamente con una secuencia de ácido nucleico que codifica un C_L o C_H de una clase o subclase deseada de inmunoglobulina. Esto puede lograrse usando un vector o molécula de ácido nucleico que comprende una cadena C_L o C_H según lo descrito precedentemente. Por ejemplo, un anticuerpo anti-M-CSF que originalmente fue una IgM puede ser cambiado de clase a una IgG. Además, la conmutación de clase puede usarse para convertir una subclase IgG a otra subclase, por ejemplo, de IgG1 a IgG2. Otro método para producir un anticuerpo de la invención que comprende un isotipo deseado comprende las etapas de aislar un ácido nucleico que codifica una cadena pesada de un anticuerpo anti-M-CSF y un ácido nucleico que codifica una cadena liviana de un anticuerpo anti-M-CSF, aislar la secuencia que codifica la región V_H , ligar la secuencia V_H con una secuencia que codifica un dominio constante de la cadena pesada del isotipo deseado, expresar el gen de la cadena liviana y la construcción de la cadena pesada en una célula, y recolectar el anticuerpo anti-M-CSF con el isotipo deseado.

[0209] En algunas realizaciones, anticuerpos anti-M-CSF de la invención tienen cambiada la serina en la posición 228 (de acuerdo con la convención de numeración de la EU) de la cadena pesada a prolina. Consecuentemente, la subsecuencia CPSC en la región F_C de IgG4 llega a ser CPPC, que es la subsecuencia en IgG1. (Aalberse, R.C. y Schuurman, J., *Immunology*, 105:9-19 (2002)). Por ejemplo, la serina en el residuo 243 de SEQ ID NO: 46 (que corresponde al residuo 228 en la convención de numeración de la EU) llegaría a ser prolina.

Similarmente, la serina en el residuo 242 de SEQ ID NO: 38 (que corresponde al residuo 228 en la convención de numeración de la EU) llegaría a ser prolina. En algunas realizaciones, la región framework del anticuerpo IgG4 puede ser retro-mutada (back-mutated) a la secuencia framework de la línea germinal. Algunas realizaciones comprenden ambas, la región de framework retro-mutada y el cambio serina a prolina en la región F_C . Vea, por ejemplo, SEQ ID NO: 54 (anticuerpo

227
204

9.14.4C-Ser) y SEQ ID NO: 58 (anticuerpo 8.10.3C-Ser) en la Tabla 1.

Anticuerpos desinmunizados

[0210] Otro modo de producir anticuerpos con inmunogenicidad reducida es la desinmunización de anticuerpos. En otro aspecto de la invención, el anticuerpo puede desinmunizarse usando las técnicas descritas en, por ejemplo, las Publicaciones PCT Nos. WO98/52976 y WO00/34317 (incorporadas en ésta por referencia en su totalidad).

Anticuerpos mutados

[0211] En otra realización, las moléculas de ácido nucleico, los vectores y las células hospedantes pueden usarse para fabricar anticuerpos anti-M-CSF mutados. Los anticuerpos pueden ser mutados en los dominios variables de las cadenas pesadas y/o livianas, por ejemplo, para modificar una propiedad de ligadura del anticuerpo. Por ejemplo, puede efectuarse una mutación en una o más de las regiones CDR para aumentar o disminuir la K_D del anticuerpo para M-CSF, para aumentar o disminuir k_{on} o para modificar la especificidad de ligadura del anticuerpo. Técnicas de mutagénesis dirigidas a un sitio son bien conocidas por el arte. Vea, por ejemplo, Sambrook *et al.* y Ausubel *et al.*, *supra*. En una realización preferida, se efectúan mutaciones en un residuo de aminoácidos del cual se sabe que está modificado, en comparación con la línea germinal, en un dominio variable de un anticuerpo anti-M-CSF. En otra realización, se efectúan una o más mutaciones en un residuo de aminoácidos del cual se sabe que está cambiado, con respecto a la línea germinal, en una región CDR o región framework de un dominio variable, o en un dominio constante de un anticuerpo monoclonal 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1. En otra realización, se efectúan una o más mutaciones en un residuo de aminoácido del cual se sabe que está modificado con respecto a la línea germinal en una región CDR o región framework de un dominio variable de una secuencia de aminoácidos de cadena pesada seleccionada entre SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 ó 102 ó cuya secuencia nucleotídica de cadena pesada está presente en SEQ ID NOS: 1, 5, 9, 25, 29, 33,

205

37, 45, 97 ó 101. En otra realización, se efectúan una o más mutaciones en un residuo de aminoácido del cual se sabe que está modificado con respecto a la línea germinal en una región CDR o región framework de un dominio variable de una secuencia de aminoácidos de cadena liviana seleccionada entre SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 44, 48, 52, 56 ó 60 ó cuya secuencia nucleotídica de cadena liviana está presente en SEQ ID NOS: 3, 7, 11, 27, 31, 35, 43 ó 47.

[0212] En una realización, se efectúa una mutación en la región framework, de modo que la región (las regiones) framework resultante(s) tiene(n) la secuencia de aminoácidos del gen correspondiente de la línea germinal. Puede efectuarse una mutación en una región framework o un dominio constante para aumentar la vida media del anticuerpo anti-M-CSF. Vea, por ejemplo, Publicación PCT No. WO 00/09560, incorporada en ésta por referencia. También puede efectuarse una mutación en una región framework o en un dominio constante para modificar la inmunogenicidad del anticuerpo, para proveer un sitio para la ligadura covalente o no covalente con otra molécula, o para modificar propiedades tales como fijación de complemento, ligadura con FcR y citotoxicidad mediada por células dependiente del anticuerpo (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC)). De acuerdo con la invención, un anticuerpo simple puede tener mutaciones en cualquier o en varias regiones CDRs o framework del dominio variable o en el dominio constante.

[0213] En algunas realizaciones, hay de 1 a 8, incluyendo cualquier número intermedio, mutaciones de aminoácidos en cualquiera de los dominios V_H o V_L del anticuerpo anti-M-CSF mutado en comparación con el anticuerpo anti-M-CSF previo a la mutación. En cualquier caso de los arriba mencionados, las mutaciones pueden ocurrir en una o más regiones CDR. Además, cualquiera de las mutaciones puede consistir de sustituciones con aminoácidos conservativos. En algunas realizaciones, no hay más de 5, 4, 3, 2 ó 1 cambios de aminoácido en los dominios constantes.

Anticuerpos modificados

[0214] En otra realización, puede fabricarse un anticuerpo de fusión o una inmunoadhesina que comprende el total o una porción de un anticuerpo anti-M-CSF de la invención ligado con otro polipéptido. En una realización preferida, solo

725
206

los dominios variables del anticuerpo anti-M-CSF están ligados con el polipéptido. En otra realización preferida, el dominio V_H de un anticuerpo anti-M-CSF está ligado con un primer polipéptido, mientras que el dominio V_L de un anticuerpo anti-M-CSF está ligado con un segundo polipéptido, asociado con el primer polipéptido de modo tal que los dominios V_H y V_L pueden interactuar entre sí para formar un sitio de ligadura de anticuerpo. En otra realización preferida, el dominio V_H está separado del dominio V_L mediante un engarce, de modo que los dominios V_H y V_L pueden interactuar entre sí (vea abajo bajo anticuerpos de una sola cadena). Luego, el anticuerpo V_H -engarce- V_L es ligado con el polipéptido de interés. El anticuerpo de fusión es útil para dirigir un polipéptido hacia una célula o tejido que expresa M-CSF. El polipéptido puede ser un agente terapéutico, tal como una toxina, un factor de crecimiento u otra proteína regulatoria, o puede ser un agente diagnóstico, tal como una enzima que puede ser fácilmente visualizada, tal como peroxidasa de rábano picante. Además, pueden crearse anticuerpos de fusión en los cuales dos (o más) anticuerpos de una sola cadena están ligados entre sí. Esto es útil si se desea crear un anticuerpo divalente o polivalente sobre una sola cadena polipéptida, o si se desea crear un anticuerpo biespecífico.

[0215] Para crear un anticuerpo de cadena simple (scFv), los fragmentos del DNA que codifican V_H y V_L son ligados operativamente con otro fragmento que codifica un engarce flexible, por ejemplo, codifica la secuencia de aminoácidos $(Gly_4-Ser)_3$, de modo que las secuencias V_H y V_L pueden ser expresadas como una proteína de cadena simple contigua con los dominios V_L y V_H unidos por el engarce flexible. Vea, por ejemplo, Bird *et al.*, *Science* 242:423-426 (1988); Huston *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883 (1988); McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-554 (1990). El anticuerpo de cadena simple puede ser monovalente, si se usa solamente una sola V_H y V_L , bivalente, si se usan dos V_H y V_L , o polivalente, si se usan más de dos V_H y V_L . Pueden generarse anticuerpos biespecíficos o polivalentes que se ligan específicamente a M-CSF y a otra molécula.

[0216] En otras realizaciones, pueden prepararse otros anticuerpos modificados usando moléculas de ácido nucleico que codifican el anticuerpo anti-M-CSF. Por ejemplo, pueden prepararse "cuerpos Kappa" (Ill *et al.*, *Protein Eng.* 10: 949-57 (1997)), "Minicuerpos" (Martin *et al.*, *EMBO J.* 13: 5303-9 (1994)), "Diacuerpos"

20x
20x

(Holliger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993)), o "Janusinas" (Traunecker *et al.*, *EMBO J.* 10:3655-3659 (1991) y Traunecker *et al.*, *Int. J. Cancer* (Suppl.) 7:51-52 (1992)) usando técnicas estándar de biología molecular siguiendo las enseñanzas de la memoria descriptiva.

[0217] Anticuerpos biespecíficos o fragmentos que ligan antígeno pueden producirse mediante una variedad de métodos, incluyendo fusión de hibridomas o enlace de fragmentos Fab'. Vea, por ejemplo, Songaivilai & Lachmann, *Clin. Exp. Immunol.* 79: 315-321 (1990), Kostelny *et al.*, *J. Immunol.* 148:1547-1553 (1992). Además, anticuerpos biespecíficos pueden formarse como "diacuerpos" o "Janusinas". En algunas realizaciones, el anticuerpo biespecífico se liga a dos epítopos diferentes de M-CSF. En algunas realizaciones, el anticuerpo biespecífico tiene una primera cadena pesada y una primera cadena liviana del anticuerpo monoclonal 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3 ó 9.7.2 y una cadena pesada y cadena liviana de un anticuerpo adicional. En algunas realizaciones, las cadenas liviana y pesada adicionales también pueden pertenecer a uno de los anticuerpos monoclonales arriba identificados, pero son diferentes de las cadenas pesada y liviana primeras.

[0218] En algunas realizaciones, los anticuerpos modificados arriba descritos se prepararan usando uno o más de los dominios variables o las regiones CDR de un anticuerpo monoclonal anti-M-CSF humano provisto en ésta, a partir de una secuencia de aminoácidos de dicho anticuerpo monoclonal, o a partir de una cadena pesada o cadena liviana codificada por una secuencia de ácido nucleico que codifica dicho anticuerpo monoclonal.

Anticuerpos derivatizados y marcados

[0219] Un anticuerpo anti-M-CSF o una porción que liga antígeno de la invención puede ser derivatizado o ligado a otra molécula (por ejemplo, otro péptido o proteína). Generalmente, los anticuerpos o una porción de los mismos son derivatizados de modo que la ligadura con M-CSF no sea afectada adversamente por la derivatización o el marcado. Por lo tanto, los anticuerpos y porciones de anticuerpo de la invención tienen la intención de incluir ambas, las formas intactas y las formas modificadas de los anticuerpos anti-M-CSF humanos descritos en ésta. Por ejemplo, un anticuerpo o porción de anticuerpo de la

invención puede estar ligado funcionalmente (mediante enlace químico, función genética, asociación no covalente o de otro modo) con una o más entidades moleculares, tales como otro anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico o un diacuerpo), un agente de detección, un agente citotóxico, un agente farmacéutico y/o una proteína o péptido que puede mediar en la asociación del anticuerpo o porción del anticuerpo con otra molécula, tal como una región del núcleo de streptavidina o un rótulo de polihistidina.

[0220] Un tipo de anticuerpo derivatizado es producido mediante la reticulación de dos o más anticuerpos (del mismo tipo o de tipos diferentes, por ejemplo, para crear anticuerpos biespecíficos). Reticulantes adecuados incluyen aquellos que son heterobifuncionales, que tienen dos grupos reactivos claramente separados por un espaciador apropiado (por ejemplo, éster m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimídico), o homobifuncionales (por ejemplo, suberato de disuccinimidilo). Tales reticulantes están disponibles de Pierce Chemical Company, Rockford, Ill.

[0221] Otro tipo de anticuerpo derivatizado es un anticuerpo marcado. Anticuerpos de detección útiles con los cuales puede derivatizarse un anticuerpo o una porción que liga antígeno de la invención incluyen compuestos fluorescentes, incluyendo fluoresceína isotiocianato de fluoresceína, rodamina, cloruro de 5-dimetilamino-1-naftalensulfonilo, ficoeritrina, sustancias fosforescentes a base de lantánidos y similares. Un anticuerpo también puede estar marcado con enzimas útiles para la detección, tales como peroxidasa de rábano picante, β -galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina, glucosa oxidasa y similares. Cuando un anticuerpo está marcado con una enzima detectable, es detectado mediante el agregado de reactivos adicionales usados por la enzima para producir un producto de reacción que puede ser discernido. Por ejemplo, cuando está presente el agente peroxidasa de rábano picante, el agregado de peróxido de hidrógeno y diaminobencidina lleva a un producto de reacción coloreado detectable. Un anticuerpo también puede ser marcado con biotina y ser detectado mediante medición indirecta de la ligadura de avidina o streptavidina. Un anticuerpo también puede ser marcado con un epítopo polipeptídico predeterminado reconocido por un reporter secundario (por ejemplo, secuencias apareadas de cierres de leucina, sitios de ligadura para anticuerpos

208
209

secundarios, dominios que ligan metales, rótulos de epítopes). En algunas realizaciones, los marcadores están unidos mediante brazos espaciadores de longitud variable para reducir el potencial de impedimento estérico.

[0222] Un anticuerpo anti-M-CSF también puede estar marcado con un aminoácido radiomarcado. El anticuerpo anti-M-CSF radiomarcado puede usarse tanto con propósitos diagnósticos como terapéuticos. Por ejemplo, el anticuerpo anti-M-CSF radiomarcado puede usarse para detectar tumores que expresan M-CSF mediante rayos x u otras técnicas de diagnóstico. Además, el anticuerpo anti-M-CSF radiomarcado puede usarse terapéuticamente como una toxina para células cancerosas o tumores. Ejemplos de marcadores para polipéptidos incluyen, pero no están limitados a, los radioisótopos o radionúclidos siguientes: ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I y ^{131}I .

[0223] Un anticuerpo anti-M-CSF también puede ser derivatizado con un grupo químico tal como polietilenglicol (PEG), un grupo metilo o etilo o un grupo dehidrato de carbono. Estos grupos son útiles para mejorar las características biológicas del anticuerpo, por ejemplo, para aumentar la vida media en suero o para aumentar la ligadura al tejido.

Composiciones y equipos farmacéuticos

[0224] La invención también se refiere a composiciones que comprenden un anticuerpo antagonista anti-M-CSF humano para el tratamiento de sujetos que necesitan un tratamiento para artritis reumatoide, osteoporosis o aterosclerosis. En algunas realizaciones, el sujeto de tratamiento es un humano. En otras realizaciones, el sujeto es un sujeto veterinario. Los trastornos hiperproliferativos en los cuales monocitos juegan un rol que pueden tratarse mediante un anticuerpo antagonista anti-M-CSF de la invención pueden implicar cualquier tejido u órgano e incluyen, pero no están limitados a, cáncer de cerebro, de pulmón, de células escamosas, de vejiga, gástrico, pancreático, de mama, de cabeza, de cuello, de hígado, renal, de ovario, de próstata, colorectal, esofágico, ginecológico, nasofaríngeo o de tiroide, melanomas, linfomas, leucemias o mielomas múltiples. En particular, los anticuerpos anti-M-CSF antagonistas humanos de la invención son útiles para tratar o prevenir carcinomas de mama, próstata, colon y pulmón.

[0225] Esta invención también comprende composiciones para el tratamiento en

un mamífero, incluyendo un humano, de una condición seleccionada del grupo formado por artritis, artritis psoriática, síndrome de Reiter, gota, artritis traumática, artritis rubella y sinovitis aguda, artritis reumatoide, espondilitis reumatoide, espondilitis anquilosante, osteoartritis, artritis gotosa y otras condiciones de artritis, sepsis, shock séptico, shock endotóxico, sepsis gram negativa, síndrome de shock tóxico, enfermedad de Alzheimer, accidente cerebrovascular, neurotrauma, asma, síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto, malaria cerebral, enfermedad inflamatoria pulmonar crónica, silicosis, sarcoidosis pulmonar, enfermedad de resorción ósea, osteoporosis, re-estenosis, daño de reperfusión cardíaca y renal, trombosis, glomerulonefritis, diabetes, reacción del injerto contra el hospedante, rechazo del aloinjerto, enfermedad intestinal inflamatoria, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, esclerosis múltiple, degeneración muscular, eczema, dermatitis de contacto, psoriasis, quemadura de sol o shock de conjuntivitis, composiciones que comprenden una cantidad de un anticuerpo monoclonal anti-M-CSF humano de la invención efectivo en tal tratamiento y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

[0226] El tratamiento puede implicar la administración de uno o más anticuerpos monoclonales anti-M-CSF antagonistas de la invención, o fragmentos que ligan antígeno de los mismos, solos o con un excipiente farmacéuticamente aceptable. Según lo usado en ésta, "excipiente farmacéuticamente aceptable" significa cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y similares que son fisiológicamente compatibles. Algunos ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables son agua, solución fisiológica, solución fisiológica bufferada con fosfato, dextrosa, glicerol, etanol y similares, como así también combinaciones de los mismos. En muchos casos, será preferible incluir en la composición agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol o cloruro de sodio. Ejemplos adicionales de sustancias farmacéuticamente aceptables son agentes de humectación o cantidades menores de sustancias auxiliares tales como agentes de humectación o emulsión, preservativos o búfferes, que aumentan la vida de estante o efectividad del anticuerpo.

[0227] Los anticuerpos anti-M-CSF de la invención y las composiciones que los comprenden pueden administrarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos, diagnósticos o profilácticos adicionales. Agentes terapéuticos adicionales incluyen otros agentes anti-neoplásicos, anti-tumorales, anti-angiogénicos o quimioterapéuticos. Tales agentes adicionales pueden estar incluidos en la misma composición o ser administrados por separado. En algunas realizaciones, pueden usarse uno o más anticuerpos anti-M-CSF inhibitorios de la invención como vacuna o como adyuvantes de una vacuna.

[0228] Las composiciones de esta invención pueden estar en varias formas, por ejemplo, formas de dosificación líquidas, semisólidas y sólidas, tales como soluciones líquidas (por ejemplo, soluciones inyectables y de infusión), dispersiones o suspensiones, tabletas, píldoras, polvos, liposomas y supositorios. La forma preferida depende del modo de administración deseado y de la aplicación terapéutica. Composiciones preferidas típicas están en la forma de soluciones inyectables o de infusión, tales como las composiciones similares a aquellas usadas para la inmunización pasiva de humanos. El modo de administración preferido es el parenteral (por ejemplo, intravenoso, subcutáneo, intraperitoneal, intramuscular). En una realización preferida, el anticuerpo se administra mediante infusión o inyección intravenosa. En otra realización preferida, el anticuerpo se administra mediante inyección intramuscular o subcutánea. En otra realización, la invención incluye un método para tratar un sujeto que lo necesita con un anticuerpo o una porción que liga antígeno del mismo que se liga específicamente a M-CSF, método que comprende las etapas de: (a) administrar una cantidad efectiva de una molécula de ácido nucleico aislado que codifica la cadena pesada o la porción que liga antígeno del mismo, una molécula de ácido nucleico aislado que codifica la cadena liviana o la porción que liga antígeno del mismo, o ambos, las moléculas de ácidos nucleicos que codifican la cadena liviana y la cadena pesada o las porciones que ligan antígeno de los mismos; y (b) expresar la molécula de ácido nucleico.

[0229] Composiciones terapéuticas típicas deben ser estériles y estables bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede formularse como solución, microemulsión, dispersión, liposoma u otra estructura ordenada

209
212

adecuada para una concentración elevada de droga. Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse mediante la incorporación de un anticuerpo anti-M-CSF en la cantidad requerida de un solvente apropiado con uno o una combinación de los ingredientes arriba enumerados, según lo requerido, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan mediante la incorporación del compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos entre aquellos arriba enumerados. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación preferidos son secado al vacío y liofilización que provee un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una solución previamente esterilizada por filtración de tales ingredientes. Puede mantenerse la fluidez apropiada de una solución, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante la manutención del tamaño de partícula requerido en el caso de una dispersión y mediante el uso de agentes tensioactivos. Puede lograrse una absorción prolongada de las composiciones inyectables mediante la inclusión en la composición de un agente que retarda la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

[0230] Los anticuerpos de la presente invención pueden administrarse mediante una variedad de métodos conocidos por el arte, si bien la ruta/modo preferido de administración para muchas aplicaciones terapéuticas es la infusión subcutánea, intramuscular o intravenosa. Como será apreciado por el entendido en el arte, la ruta y/o modo de administración variará en dependencia de los resultados deseados.

[0231] En ciertas realizaciones, el compuesto activo de las composiciones de anticuerpo puede ser preparado con un excipiente que protegerá el anticuerpo contra una liberación rápida, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes, parches transdérmicos y sistemas de liberación microencapsulados. Pueden usarse polímeros biocompatibles, biodegradables, tales como vinilacetato de etileno, polianhidridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Muchos métodos para la preparación de tales formulaciones están patentados o generalmente conocidos por los entendidos en el arte. Vea, por ejemplo, *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*

20
213

(J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978).

[0232] En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-M-CSF de la invención puede ser administrado oralmente, por ejemplo, con un diluyente inerte o un excipiente comestible asimilable. El compuesto (y otros ingredientes, si descado) también puede ser encerrado en una cápsula de gelatina dura o blanda, comprimido en tabletas o incorporado directamente en la dieta del sujeto. Para la administración terapéutica oral, los anticuerpos anti-M-CSF pueden ser incorporados con excipientes y ser usados en la forma de tabletas ingeribles, tabletas bucales, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas y similares. Para administrar un compuesto de la invención mediante otro tipo de administración que la parenteral, puede ser necesario recubrir el compuesto con, o co-administrar el compuesto con, un material para prevenir su inactivación.

[0233] También pueden incorporarse en las composiciones compuestos activos adicionales. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-M-CSF de la invención es co-formulado y/o co-administrado con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Estos agentes incluyen anticuerpos que ligan otros blancos, agentes antineoplásicos, agentes antitumorales, agentes quimioterapéuticos, análogos peptídicos que inhiben M-CSF, *c-fms* soluble que puede ligar M-CSF, uno o más agentes químicos que inhiben M-CSF, agentes anti-inflamatorios, anti-coagulantes, agentes que disminuyen la presión sanguínea (por ejemplo, inhibidores de la enzima que convierte angiotensina (ACE)). Tales terapias de combinación pueden requerir dosificaciones menores del anticuerpo anti-M-CSF como así también de los agentes co-administrados, evitando de este modo posibles toxicidades o complicaciones asociadas con varias monoterapias.

[0234] Los anticuerpos anti-M-CSF inhibitorios de la invención y las composiciones que los comprenden también pueden administrarse en combinación con otros regímenes terapéuticos, particularmente en combinación con un tratamiento de radiación para cáncer. Los compuestos de la presente invención también pueden usarse en combinación con agentes anticáncer tales como endostatina y angiostatina o drogas citotóxicas tales como adriamicina, daunomicina, cis-platino, etoposida, taxol, taxotere y alcaloides, tales como vincristina, inhibidores de farnesil transferasa, inhibidores de VEGF y

antimetabolitos tal como metotrexato.

[0235] Los compuestos de la invención también pueden usarse en combinación con agentes antivirales tales como Viracept, AZT, aciclovir y fanciclovir y compuestos antisépticos tal como Valant.

[0236] Las composiciones de la invención pueden incluir una "cantidad terapéuticamente efectiva" o una "cantidad profilácticamente efectiva" de un anticuerpo o una porción que liga antígeno de la invención. Una "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad efectiva, en dosificaciones y durante períodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico deseado. Una cantidad terapéuticamente efectiva del anticuerpo o porción de anticuerpo puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, edad, sexo y peso del individuo y la capacidad del anticuerpo o porción de anticuerpo para provocar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad terapéuticamente efectiva también es una cantidad con la cual se compensan efectos tóxicos o perniciosos cualesquiera del anticuerpo o porción de anticuerpo mediante los efectos terapéuticos beneficiosos. Una "cantidad profilácticamente efectiva" se refiere a una cantidad efectiva, en dosificaciones y durante períodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado profiláctico deseado. Típicamente, como una dosis profiláctica se usa en sujetos previo a, o en una etapa anterior de, la enfermedad, la cantidad profilácticamente efectiva será menor que la cantidad terapéuticamente efectiva.

[0237] Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proveer la respuesta óptima deseada (por ejemplo, una respuesta terapéutica o profiláctica). Por ejemplo, puede administrarse un solo bolo, varias dosis divididas durante un período de tiempo, o la dosis puede ser reducida o aumentada proporcionalmente según lo indicado por las exigencias de la situación terapéutica. Es especialmente ventajoso formular composiciones parenterales en la forma de unidades de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. "Forma de unidad de dosificación", según lo usado en ésta, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para el tratamiento de sujetos mamíferos; cada unidad contiene una cantidad predeterminada del compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en

215

asociación con el excipiente farmacéutico requerido. La especificación de las formas de unidad de dosificación de la invención es dictada por, y directamente dependiente de, (a) las características únicas del anticuerpo anti-M-CSF o la porción del mismo y del efecto terapéutico o profiláctico particular a ser logrado, y (b) las limitaciones inherentes al arte de formular la composición de tal anticuerpo para el tratamiento de la enfermedad en individuos.

[0238] Una gama típica, no limitante, para una cantidad terapéuticamente o profilácticamente efectiva de un anticuerpo o porción de anticuerpo de la invención es 0,025 a 50 mg/kg, más preferentemente 0,1 a 50 mg/kg, más preferentemente 0,1-25, 0,1 a 10 ó 0,1 a 3 mg/kg. Debe observarse que los valores de dosificación pueden variar con el tipo y la severidad de la condición a ser aliviada. Debe entenderse, además, que para cualquier sujeto particular deben ajustarse regímenes de dosificación específicos a lo largo del tiempo, de acuerdo con la necesidad del individuo y la evaluación profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que las gamas de dosificación establecidas en ésta son dadas solamente a modo de ejemplo y no tienen la intención de limitar el alcance o la práctica de la composición reivindicada.

[0239] Otro aspecto de la presente invención provee equipos que comprenden un anticuerpo anti-M-CSF o una porción que liga antígeno de la invención o una composición que comprende tal anticuerpo o porción. Un equipo puede incluir, además del anticuerpo o la composición, agentes diagnósticos o terapéuticos. Un equipo también puede incluir instrucciones para el uso en un método diagnóstico o terapéutico. En una realización preferida, el equipo incluye el anticuerpo o una composición que lo comprende y un agente diagnóstico que puede ser usado en un método descrito más abajo. En otra realización preferida, el equipo incluye el anticuerpo o una composición que lo comprende y uno o más agentes terapéuticos que pueden usarse en un método descrito más abajo. Una realización de la invención es un equipo que comprende un contenedor, instrucciones sobre la administración de un anticuerpo anti-M-CSF a un humano que sufre de una enfermedad inflamatoria, o instrucciones para medir el número de monocitos CD14+CD16+ en una muestra biológica y un anticuerpo anti-M-CSF.

[0240] Esta invención también se refiere a composiciones para inhibir el crecimiento celular anormal en un mamífero, composición que comprende una

cantidad de un anticuerpo de la invención en combinación con una cantidad de una agente quimioterapéutico, donde las cantidades de compuesto, sal, solvato o prodroga y del agente quimioterapéutico son conjuntamente efectivas para inhibir un crecimiento celular anormal. Actualmente el arte conoce muchos agentes quimioterapéuticos. En algunas realizaciones, el agente quimioterapéutico es seleccionado del grupo formado por inhibidores mitóticos, agentes de alquilación, anti-metabolitos, antibióticos de intercalado, inhibidores del factor de crecimiento, inhibidores del ciclo celular, enzimas, inhibidores de topoisomerasa, modificadores de la respuesta biológica, antihormonas, por ejemplo, anti-andrógenos y agentes anti-angiogénesis.

[0241] Agentes de anti-angiogénesis, tales como inhibidores de MMP-2 (matriz-metaloproteínasa 2), inhibidores de MMP-9 (matriz-metaloproteínasa 9) e inhibidores de COX-II (ciclooxigenasa II) pueden usarse conjuntamente con un anticuerpo anti-M-CSF de la invención. Ejemplos de inhibidores COX-II útiles incluyen CELEBREXTM (celecoxib), valdecoxib y rofecoxib. Ejemplos de inhibidores de matriz-metaloproteínasa útiles se describen en WO 96/33172 (publicada el 24 de octubre de 1996), WO 96/27583 (publicada el 7 de marzo de 1996), Solicitud de Patente Europea No. 97304971.1 (solicitada el 8 de julio de 1997), Solicitud de Patente Europea No. 99308617.2 (solicitada el 29 de octubre de 1999), WO 98/07697 (publicada el 26 de febrero de 1998), WO 98/03516 (publicada el 29 de enero de 1998), WO 98/34918 (publicada el 13 de agosto de 1998), WO 98/34915 (publicada el 13 de agosto de 1998), WO 98/33768 (publicada el 6 de agosto de 1998), WO 98/30566 (publicada el 16 de julio de 1998), Publicación de Patente Europea 606,046 (publicada el 13 de julio de 1994), Publicación de Patente Europea 931.788 (publicada el 28 de julio de 1999), WO 90/05719 (publicada el 31 de mayo de 1990), WO 99/52910 (publicada el 21 de octubre de 1999), WO 99/52889 (publicada el 21 de octubre de 1999), WO 99/29667 (publicada el 17 de junio de 1999), Solicitud Internacional PCT No. PCT/IB98/01113 (solicitada el 21 de julio de 1998), Solicitud de Patente Europea No. 99302232.1 (solicitada el 25 de marzo de 1999), solicitud de patente de Gran Bretaña número 9912961.1 (solicitada el 3 de junio de 1999), Solicitud Provisional U.S. No. 60/148,464 (solicitada el 12 de agosto de 1999), Patente U.S. 5.863.949

(concedida el 26 de enero de 1999), Patente U.S. 5.861.510 (concedida el 19 de enero de 1999), y Publicación de Patente Europea 780.386 (publicada el 25 de junio de 1997), todos las cuales están incorporadas en ésta en su totalidad por referencia. Inhibidores de MMP preferidos son aquellos que no muestran artroalgia. Más preferidos son aquellos que inhiben selectivamente MMP-2 y/o MMP-9 con relación a las otras matriz-metaloproteinasas (es decir, MMP-1, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP-7, MMP-8, MMP-10, MMP-11, MMP-12 y MMP-13). Algunos ejemplos específicos de inhibidores de MMP útiles en la presente invención son AG-3340, RO 32-3555, RS 13-0830, y los compuestos enumerados en la lista siguiente: ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenesulfonyl]-(1-hidroxicarbamoil-ciclopentil)-amino]-propiónico; hidroxiamida del ácido 3-exo-3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencensulfonylamino]-8-oxa-biciclo[3.2.1]octan-3-carboxílico; hidroxiamida del ácido (2R, 3R) 1-[4-(2-cloro-4-fluoro-benciloxi)-bencensulfonyl]-3-hidroxi-3-metil-piperidin-2-carboxílico; hidroxiamida del ácido 4-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencensulfonylamino]-tetrahydro-piran-4-carboxílico; ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencensulfonyl]-(1-hidroxicarbamoil-ciclobutil)-amino]-propiónico; hidroxiamida del ácido 4-[4-(4-cloro-fenoxi)-bencensulfonylamino]-tetrahydro-piran-4-carboxílico; hidroxiamida del ácido (R) 3-[4-(4-cloro-fenoxi)-bencensulfonylamino]-tetrahydro-piran-3-carboxílico; hidroxiamida del ácido (2R, 3R) 1-[4-(4-fluoro-2-metil-benciloxi)-bencensulfonyl]-3-hidroxi-3-metil-piperidin-2-carboxílico; ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencensulfonyl]-(1-hidroxicarbamoil-1-metil-etil)-amino]-propiónico; ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencensulfonyl]-(4-hidroxicarbamoil-tetrahydro-piran-4-il)-amino]-propiónico; hidroxiamida del ácido 3-exo-3-[4-(4-cloro-fenoxi)-bencensulfonylamino]-8-oxa-biciclo[3.2.1]octan-3-carboxílico; hidroxiamida del ácido 3-endo-3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencensulfonylamino]-8-oxa-biciclo[3.2.1]octan-3-carboxílico; y hidroxiamida del ácido (R) 3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencensulfonylamino]-tetrahydro-furan-3-carboxílico; y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos.

[0242] Un compuesto que comprende un anticuerpo monoclonal anti-M-CSF humano de la invención también puede usarse con inhibidores de transducción de señales, tales como agentes que pueden inhibir respuestas al EGF-R (receptor del

218

factor de crecimiento epidérmico), tales como anticuerpos de EGF-R, anticuerpos EGF y moléculas que son inhibidores de EGF-R; inhibidores del VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) tales como receptores VEGF-R y moléculas que pueden inhibir VEGF; e inhibidores del receptor erbB2, tales como moléculas orgánicas o anticuerpos que se ligan al receptor erbB2, por ejemplo, HERCEPTIN™ (Genentech, Inc.). Los inhibidores del EGF-R se describen, por ejemplo, en WO 95/19970 (publicada el 27 de julio de 1995), WO 98/14451 (publicada el 9 de abril de 1998), WO 98/02434 (publicada el 22 de enero de 1998), y la Patente de los Estados Unidos 5.747.498 (concedida el 5 de mayo de 1998), y tales sustancias pueden usarse en la presente invención según lo descrito en ésta. Los agentes inhibidores del EGFR incluyen, pero no están limitados a, los anticuerpos monoclonales C225 y anti-EGF-R 22Mab (ImClone Systems Incorporated), ABX-EGF (Abgenix/Cell Genesys), EMD-7200 (Merck KgaA), EMD-5590 (Merck KgaA), MDX-447/H-477 (Medarex Inc. y Merck KgaA), y los compuestos ZD-1834, ZD-1838 y ZD-1839 (AstraZeneca), PKI-166 (Novartis), PKI-166/CGP-75166 (Novartis), PTK 787 (Novartis), CP 701 (Cephalon), leflunomida (Pharmacia/Sugen), CI-1033 (Warner Lambert Parke Davis), CI-1033/PD 183,805 (Warner Lambert Parke Davis), CL-387,785 (Wyeth-Ayerst), BBR-1611 (Boehringer Mannheim GmbH/Roche), Naamidina A (Bristol Myers Squibb), RC-3940-II (Pharmacia), BIBX-1382 (Boehringer Ingelheim), OLX-103 (Merck & Co.), VRCTC-310 (Ventech Research), toxina de fusión EGF (Seragen Inc.), DAB-389 (Seragen/Lilgand), ZM-252808 (Imperial Cancer Research Fund), RG-50864 (INSERM), LFM-A12 (Parker Hughes Cancer Center), WHI-P97 (Parker Hughes Cancer Center), GW-282974 (Glaxo), KT-8391 (Kyowa Hakko) y Vacuna EGF-R (York Medical/Centro de Immunología Molecular (CIM)). Estos y otros agentes inhibidores de EGF-R pueden usarse en la presente invención.

[0243] Los inhibidores de VEGF, por ejemplo SU-5416 y SU-6668 (Sugen Inc.), AVASTIN™ (Genentech), SH-268 (Schering) y NX-1838 (NeXstar) también pueden combinarse con el compuesto de la presente invención. Los inhibidores de VEGF se describen en, por ejemplo, WO 99/24440 (publicada el 20 de mayo de 1999), Solicitud Internacional PCT PCT/IB99/00797 (solicitada el 3 de mayo de 1999), WO 95/21613 (publicada el 17 de agosto de 1995), WO 99/61422

219

(publicada el 2 de diciembre de 1999), Patente de los Estados Unidos 5.834.504 (concedida el 10 de noviembre de 1998), WO 98/50356 (publicada el 12 de noviembre de 1998), Patente de los Estados Unidos 5.883.113 (concedida el 16 de marzo de 1999), Patente de los Estados Unidos 5.886.020 (concedida el 23 de marzo de 1999), Patente de los Estados Unidos 5.792.783 (concedida el 11 de agosto de 1998), WO 99/10349 (publicada el 4 de marzo de 1999), WO 97/32856 (publicada el 12 de setiembre de 1997), WO 97/22596 (publicada el 26 de junio de 1997), WO 98/54093 (publicada el 3 de diciembre de 1998), WO 98/02438 (publicada el 22 de enero de 1998), WO 99/16755 (publicada el 8 de abril de 1999), y WO 98/02437 (publicada el 22 de enero de 1998), todas las cuales están incorporadas en ésta en su totalidad por referencia. Otros ejemplos de algunos inhibidores específicos de VEGF útiles en la presente invención son IM862 (Cytran Inc.); anticuerpo monoclonal anti-VEGF de Genentech, Inc.; y angiozima, una ribozima sintética de Ribozyme y Chiron. Estos y otros inhibidores de VEGF pueden usarse en la presente invención según lo descrito en ésta. Los inhibidores del receptor erbB2, tales como GW-282974 (Glaxo Wellcome plc), y los anticuerpos monoclonales AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc.) y 2B-1 (Chiron) pueden ser combinados además con los compuestos de la invención, por ejemplo aquellos indicados en WO 98/02434 (publicada el 22 de enero de 1998), WO 99/35146 (publicada el 15 de julio de 1999), WO 99/35132 (publicada el 15 de julio de 1999), WO 98/02437 (publicada el 22 de enero de 1998), WO 97/13760 (publicada el 17 de abril de 1997), WO 95/19970 (publicada el 27 de julio de 1995), Patente de los Estados Unidos 5.587.458 (concedida el 24 de diciembre de 1996), y Patente de los Estados Unidos 5.877.305 (concedida el 2 de marzo de 1999), todas las cuales están incorporadas en ésta en su totalidad por referencia. Los inhibidores del receptor erbB2 útiles en la presente invención también se describen en la Patente de los Estados Unidos 6.465.449 (concedida el 15 de octubre de 2002), y en la Patente de los Estados Unidos 6.284.764 (concedida el 4 de setiembre de 2001), ambas incorporadas en ésta en su totalidad por referencia. Los compuestos inhibidores del receptor erbB2 y la sustancia descrita en las solicitudes PCT, patentes U.S. y solicitudes provisionales U.S. arriba mencionadas, como así también otros compuestos y sustancias que inhiben el receptor erbB2,

pueden usarse con el compuesto de la presente invención de acuerdo con la presente invención.

[0244] Los agentes anti-supervivencia incluyen anticuerpos anti-IGF-IR y agentes anti-integrina, tales como anticuerpos anti-integrina.

[0245] Los agentes anti-inflamatorios pueden usarse conjuntamente con un anticuerpo anti-M-CSF de la invención. Para el tratamiento de la artritis reumatoide, los anticuerpos anti-M-CSF humanos de la invención pueden combinarse con agentes tales como inhibidores de TNF- α tales como drogas TNF (tales como REMICADE™, CDP-870 y HUMIRA™) y moléculas de inmunoglobulina del receptor de TNF (tal como ENBREL™), inhibidores de IL-1, antagonistas del receptor o IL-1ra. soluble (por ejemplo Kineret o inhibidores de ICE), inhibidores de COX-2 (tales como celecoxib, rofecoxib, valdecoxib y etoricoxib), inhibidores de metaloproteasa (preferentemente inhibidores selectivos para MMP-13), inhibidores de p2X7, ligandos de $\alpha 2\delta$ (tales como NEUROTIN™ y PREGABALIN™), metotrexato de dosis baja, leflunomida, hidroxicloroquina, d-penicilamina, suranofina u oro parenteral u oral. Los compuestos de la invención también pueden usarse en combinación con agentes terapéuticos existentes para el tratamiento de osteoartritis. Agentes adecuados a ser usados en combinación incluyen agentes no esteroides anti-inflamatorios (en lo sucesivo NSAID's) tales como piroxicam, diclofenac, ácidos propiónicos tales como naproxeno, flurbiprofeno, fenoprofeno, quetoprofeno e ibuprofeno, fenamatos tales como ácido mefenámico, indometacina, sulindac, apasona, pirazolonas tal como fenilbutazona, salicilatos tal como aspirina, inhibidores de COX-2 tales como celecoxib, valdecoxib, rofecoxib y etoricoxib, analgésicos y terapias intraarticulares tales como corticosteroides y ácidos hialurónicos tales como hialgan y sinvisc.

[0246] Los agentes anti-coagulantes pueden usarse conjuntamente con un anticuerpo anti-M-CSF de la invención. Ejemplos de agentes anti-coagulantes incluyen, pero no están limitados a, varfarina (COUMADIN™), heparina y enoxaparina (LOVENOX™).

[0247] Los anticuerpos anti-M-CSF humanos de la presente invención también pueden usarse en combinación con agentes cardiovasculares tales como

bloqueadores de canales de calcio, agentes que disminuyen el nivel de lípidos tales como estatinas, fibratos, bloqueadores beta, inhibidores de ACE, antagonistas del receptor de angiotensina-2 e inhibidores de la agregación plaquetaria. Los compuestos de la presente invención también pueden usarse en combinación con agentes del sistema nervioso central (CNS) tales como antidepresivos (tal como sertralina), drogas antiparkinsonianas, tales como deprenil, L-dopa, REQUIP™, MIRAPEX™, inhibidores de MAOB tales como selegina y rasagilina, inhibidores de COMT tal como Tasmar, inhibidores de A-2, inhibidores de la reabsorción de dopamina, antagonista de NMDA, agonistas de nicotina, agonistas de dopamina e inhibidores de la sintasa neuronal de óxido nítrico), y drogas anti-Alzheimer tales como donepezil, tacrina, inhibidores de LIGANDOS $\alpha 25$ (tales como NEUROTIN™ y PREGABALIN™), inhibidores de COX-2, propentofilina o metrifonato.

[0248] Los anticuerpos anti-M-CSF humanos de la presente invención también pueden usarse en combinación con agentes de osteoporosis tales como roloxifeno, droloxifeno, lasofoxifeno o fosomax y agentes inmunosupresores tales como FK-506 y rapamicina.

Métodos diagnósticos usados

[0249] En otro aspecto, la invención provee métodos diagnósticos. Los anticuerpos anti-M-CSF pueden usarse para detectar M-CSF en una muestra biológica *in vitro* o *in vivo*. En una realización, la invención provee un método para diagnosticar la presencia o ubicación de un tumor que expresa M-CSF en un sujeto que necesita tal diagnóstico, método que comprende las etapas de inyectar el anticuerpo en el sujeto, determinar la expresión de M-CSF en el sujeto mediante la localización del sitio de ligadura del anticuerpo, comparar la expresión en el sujeto con aquella de un sujeto de referencia normal o estándar y diagnosticar la presencia o ubicación del tumor.

[0250] Los anticuerpos anti-M-CSF pueden usarse en un inmunoensayo convencional, incluyendo, sin limitación, un ensayo ELISA, un ensayo RIA, FACS, inmunohistoquímica de tejidos, transferencia de Western o inmunoprecipitación. Los anticuerpos anti-M-CSF de la invención pueden usarse para detectar M-CSF de humanos. En otra realización, los anticuerpos anti-M-CSF

pueden usarse para detectar M-CSF de primates tales como monos cynomologus, monos rhesus, chimpancés o simios. La invención provee un método para detectar M-CSF en una muestra biológica, método que comprende poner en contacto una muestra biológica con un anticuerpo anti-M-CSF de la invención y detectar el anticuerpo ligado. En una realización, el anticuerpo anti-M-CSF está marcado directamente con un marcador detectable. En otra realización, el anticuerpo anti-M-CSF (el primer anticuerpo) no está marcado y un segundo anticuerpo u otra molécula que puede ligar al anticuerpo anti-M-CSF está marcado. Como es bien conocido por un entendido en el arte, se elige un segundo anticuerpo que sea capaz de ligar específicamente la especie y clase particular del primer anticuerpo. Por ejemplo, si el anticuerpo anti-M-CSF es una IgG humana, entonces el segundo anticuerpo puede ser una IgG anti-humana. Otras moléculas que pueden ligarse con anticuerpos incluyen, sin limitación, Proteína A y Proteína G, ambas disponibles comercialmente, por ejemplo, de Pierce Chemical Co.

[0251] Marcadores adecuados para el anticuerpo o anticuerpo secundario se han revelado supra, e incluyen varias enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes y materiales radioactivos. Ejemplos de enzimas adecuadas incluyen peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, β -galactosidasa o acetilcolinesterasa; ejemplos de complejos de grupos prostéticos adecuados incluyen streptavidina/biotina y avidina/biotina; ejemplos de materiales fluorescentes adecuados incluyen umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilaminofluoresceína, cloruro de dansilo o ficoeritrina; un ejemplo de un material luminiscente incluye luminol; y ejemplos de materiales radioactivos adecuados incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S o ^3H .

[0252] En otras realizaciones, M-CSF puede ensayarse en una muestra biológica mediante un inmunoensayo de competición utilizando estándares de M-CSF marcados con una sustancia detectable y un anticuerpo anti-M-CSF no marcado. En este ensayo se combinan la muestra biológica, los estándares de M-CSF marcados y el anticuerpo anti-M-CSF, y se determina la cantidad de M-CSF estándar marcado ligada al anticuerpo no marcado. La cantidad de M-CSF en la muestra biológica es inversamente proporcional a la cantidad de M-CSF estándar marcado ligada al anticuerpo anti-M-CSF.

[0253] Los inmunoensayos arriba expuestos pueden usarse para varios propósitos. Por ejemplo, pueden usarse anticuerpos anti-M-CSF para detectar M-CSF en células o sobre la superficie celular de las células en un cultivo celular, o segregado en el medio de cultivo de tejidos. Los anticuerpos anti-M-CSF pueden usarse para determinar la cantidad de M-CSF sobre la superficie de células o segregado en el medio de cultivo de tejidos que han sido tratados con varios compuestos. Este método puede usarse para identificar compuestos que son útiles para inhibir o activar la expresión o secreción de M-CSF. De acuerdo con este método, una muestra de células se trata con un compuesto de ensayo durante un período de tiempo, mientras que otra muestra se deja sin tratar. Si desea medirse el nivel total de M-CSF, las células se someten a lisis y se mide el nivel total de M-CSF usando uno de los inmunoensayos descritos precedentemente. El nivel total de M-CSF en las células tratadas se compara con el nivel de M-CSF en las células no tratadas para determinar el efecto del compuesto de ensayo.

[0254] Un inmunoensayo para medir niveles de M-CSF total es un ensayo ELISA o de transferencia de Western. Si desea medirse el nivel de M-CSF en la superficie celular, las células no se someten a lisis, y se pueden medir los niveles de M-CSF en la superficie celular, usando uno de los inmunoensayos descritos precedentemente. Un inmunoensayo para determinar niveles de M-CSF en la superficie celular puede incluir las etapas de marcar las proteínas de la superficie celular con un marcador detectable, tal como biotina o ^{125}I , inmunoprecipitar el M-CSF con un anticuerpo anti-M-CSF y detectar luego el M-CSF marcado. Otro inmunoensayo para determinar la localización de M-CSF, por ejemplo, niveles en la superficie celular, puede ser inmunohistoquímica. Métodos tales como ELISA, RIA, transferencia de Western, inmunohistoquímica, marcado en la superficie celular de proteínas integrales de la membrana e inmunoprecipitación son bien conocidos por el arte. Vea, por ejemplo, Harlow y Lane, *supra*. Además, los inmunoensayos pueden realizarse en mayor escala para una clasificación de alto rendimiento, con el fin de ensayar un gran número de compuestos para la activación o inhibición de M-CSF.

[0255] Otro ejemplo de un inmunoensayo para medir niveles de M-CSF segregado puede ser un ensayo de captación de antígeno, ELISA, ensayo

inmunohistoquímico, transferencia de Western y similares usando anticuerpos de la invención. Si se desea medir M-CSF segregado, puede ensayarse un medio de cultivo celular o un fluido corporal, tales como suero sanguíneo, orina o fluido sinovial, por M-CSF segregado y/o pueden lisarse células para liberar M-CSF producido, pero todavía no segregado. Un inmunoensayo para determinar niveles segregados de M-CSF incluye las etapas de marcar las proteínas segregadas con un marcador detectable, tal como biotina o ^{125}I , inmunoprecipitar el M-CSF con un anticuerpo anti-M-CSF y detectar luego el M-CSF marcado. Otro inmunoensayo para determinar niveles segregados de M-CSF puede incluir las etapas de (a) preligar anticuerpos anti-M-CSF a la superficie de una placa de microtitulación; (b) agregar un medio celular de cultivo de tejido o un fluido corporal que contiene el M-CSF segregado a las cavidades de la placa de microtitulación para ligarlo a los anticuerpos anti-M-CSF; (c) agregar un anticuerpo que detectará el anticuerpo anti-M-CSF, por ejemplo, anti-M-CSF marcado con digoxigenina que se liga a un epítipo de M-CSF diferente al anticuerpo anti-M-CSF de la etapa (a); (d) agregar un anticuerpo a digoxigenina conjugada a peroxidasa; y (e) agregar un sustrato de peroxidasa que proveerá un producto de reacción coloreado que puede ser cuantificado para determinar el nivel de M-CSF segregado en un medio celular de cultivo de tejido o una muestra de un fluido corporal. Métodos tales como ELISA, RIA, transferencia de Western, inmunohistoquímica y ensayo de captación de antígenos son bien conocidos por el arte. Vea, por ejemplo, Harlow y Lane, *supra*. Además, los inmunoensayos pueden realizarse en mayor escala para una clasificación de alto rendimiento, con el fin de ensayar un gran número de compuestos para la activación o inhibición de M-CSF.

[0256] Los anticuerpos anti-M-CSF de la invención también pueden usarse para determinar los niveles de M-CSF en la superficie celular en un tejido o en células derivadas del tejido. En algunas realizaciones, el tejido es un tejido enfermo. En algunas realizaciones, el tejido puede ser un tumor o una biopsia del mismo. En algunas realizaciones del método, un tejido o una biopsia del mismo puede ser extirpado de un paciente. Luego, el tejido o biopsia puede usarse en un inmunoensayo para determinar, por ejemplo, niveles totales de M-CSF, niveles de M-CSF en la superficie celular o la localización de M-CSF mediante métodos

discutidos precedentemente.

[0257] El método puede comprender las etapas de administrar un anticuerpo anti-M-CSF marcado en forma detectable o una composición que lo comprende a un paciente que necesita tal ensayo diagnóstico y someter al paciente a un análisis por imagen para determinar la ubicación de los tejidos que expresan M-CSF. El análisis por imagen es bien conocido por el arte médico, e incluye, sin limitación, análisis con rayos x, diagnóstico por imagen con resonancia magnética (MRI) o tomografía computada (CE). El anticuerpo puede marcarse con cualquier agente adecuado para diagnóstico por imagen *in vivo*, por ejemplo un agente de contraste, tal como bario, que puede usarse para análisis con rayos x, o un agente de contraste magnético, tal como un quelato de gadolinio, que puede usarse para MRI o CE. Otros agentes para marcación incluyen, sin limitación, radioisótopos, tal como ^{99}Tc . En otra realización, el anticuerpo anti-M-CSF no estará marcado y será diagnosticado por imagen mediante la administración de un segundo anticuerpo u otra molécula que sea detectable y que pueda ligar el anticuerpo anti-M-CSF. En una realización, se obtiene una biopsia del paciente para determinar si el tejido de interés expresa M-CSF.

[0258] Los anticuerpos anti-M-CSF de la invención también pueden usarse para determinar los niveles segregados de M-CSF en un fluido corporal tal como suero sanguíneo, orina o fluido sinovial derivado de un tejido. En algunas realizaciones, el fluido corporal es de un tejido enfermo. En algunas realizaciones, el fluido corporal es de un tumor o una biopsia del mismo. En algunas realizaciones del método, se separa fluido corporal de un paciente. Luego se usa el fluido en un inmunoensayo para determinar niveles de M-CSF segregado mediante los métodos discutidos precedentemente. Una realización de la invención es un método para ensayar la actividad de un antagonista de M-CSF, método que comprende: administrar un antagonista de M-CSF a un primate o sujeto humano y medir el número de monocitos CD14+CD16+ en una muestra biológica.

Métodos terapéuticos usados

[0259] En otra realización, la invención provee un método para inhibir la actividad de M-CSF mediante la administración de un anticuerpo anti-M-CSF a un paciente que lo necesita. Cualquiera de los tipos de anticuerpos descritos en ésta

223
226

puede usarse terapéuticamente. En una realización preferida, el anticuerpo anti-M-CSF es un anticuerpo humano, quimérico o humanizado. En otra realización preferida, el M-CSF es humano y el paciente es un paciente humano.

Alternativamente, el paciente puede ser un mamífero que expresa un M-CSF con el cual el anticuerpo anti-M-CSF reacciona en forma cruzada. El anticuerpo puede ser administrado a un mamífero no humano que expresa un M-CSF con el cual el anticuerpo reacciona en forma cruzada (es decir, de un primate) con propósitos veterinarios o como un modelo animal de una enfermedad humana. Tales modelos animales pueden ser útiles para evaluar la eficacia terapéutica de anticuerpos de esta invención.

[0260] Según lo usado en ésta, el término "un trastorno en el cual la actividad de M-CSF es perniciosa" incluye enfermedades y otros trastornos en los cuales la presencia de elevados niveles de M-CSF en un sujeto que sufre del trastorno mostró ser, o supuestamente es, responsable por la patofisiología del trastorno o es un factor que contribuye al empeoramiento del trastorno. Tales trastornos pueden ser puestos en evidencia, por ejemplo, por un aumento en los niveles de M-CSF segregado y/o sobre la superficie celular o por la autofosforilación aumentada de la tirosina de *c-fms* en las células o los tejidos afectados de un sujeto que sufre el trastorno. El aumento de niveles de M-CSF puede detectarse, por ejemplo, usando un anticuerpo anti-M-CSF según lo descrito precedentemente.

[0261] En una realización, un anticuerpo anti-M-CSF puede administrarse a un paciente que tiene un tumor que expresa *c-fms* o un tumor que segrega M-CSF y/o que expresa M-CSF sobre su superficie celular. Preferentemente, el tumor expresa un nivel de *c-fms* o M-CSF que es mayor que el nivel en un tejido normal. El tumor puede ser un tumor sólido o puede ser un tumor no sólido, tal como un linfoma. En una realización más preferida, un anticuerpo anti-M-CSF puede administrarse a un paciente que tiene un tumor que expresa *c-fms*, un tumor que expresa M-CSF o un tumor que segrega M-CSF que es canceroso. Además, el tumor puede ser canceroso. En una realización aún más preferida, el tumor es un cáncer de pulmón, mama, próstata o colon. En otra realización preferida, el anticuerpo anti-M-CSF administrado a un paciente resulta en que M-CSF no esté más ligado al receptor *c-fms*. En una realización altamente preferida, el método

224
227

causa que el tumor no aumente en peso o volumen o que disminuya en peso o volumen. En otra realización, el método causa que el *c-fms* sobre células tumorales no esté ligado por M-CSF. En otra realización, el método causa que el M-CSF sobre células tumorales no esté ligado a *c-fms*. En otra realización, el método causa que el M-CSF segregado de las células tumorales no esté ligado a *c-fms*. En una realización preferida, el anticuerpo se selecciona entre 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 ó 9.14.4G1 ó comprende una cadena pesada, cadena liviana o región que liga antígeno del mismo.

[0262] En otra realización preferida, un anticuerpo anti-M-CSF puede administrarse a un paciente que expresa niveles inapropiadamente elevados de M-CSF. El arte conoce que la expresión de niveles elevados de M-CSF puede conducir a una variedad de cánceres comunes. En una realización, dicho método se refiere al tratamiento de cáncer, tal como cáncer de cerebro, de células escamosas, de vejiga, gástrico, pancreático, de mama, de cabeza, de cuello, esofágico, de próstata, colorectal, de pulmón, renal, de riñón, de ovarios, ginecológico o de tiroides. Pacientes que pueden tratarse con un compuesto de la invención de acuerdo con los métodos de esta invención incluyen, por ejemplo, pacientes a los cuales se ha diagnosticado o que tienen cáncer de pulmón, cáncer de hueso, cáncer pancreático, cáncer de piel, cáncer de cabeza y de cuello, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer uterino, cáncer de ovarios, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer estomacal, cáncer del colon, cáncer de mamas, tumores ginecológicos (por ejemplo, sarcomas uterinos, carcinoma de las trompas de falopio, carcinoma del endometrio, carcinoma cervical, carcinoma de la vagina o carcinoma de la vulva), enfermedad de Hodgkin, cáncer del esófago, cáncer de intestino delgado, cáncer del sistema endócrino (por ejemplo, cáncer de las glándulas tiroide, paratiroide o adrenales), sarcomas de los tejidos blandos, cáncer de la uretra, cáncer del pene, cáncer de próstata, leucemia crónica o aguda, tumores sólidos (por ejemplo, sarcomas, carcinomas o linfomas que son cánceres de tejidos corporales diferentes de sangre, médula ósea o el sistema linfático), tumores sólidos de la

225
228

niñez, linfomas linfocíticos, cáncer de la vejiga, cáncer del riñón o de la uretra (por ejemplo, carcinoma de las células renales, carcinoma de la pelvis renal), o neoplasmas del sistema nervioso central (por ejemplo, linfoma del sistema nervioso central (CNS) primario, tumores del eje espinal, gliomas de las células madre de cerebro o adenomas pituitarios). En una realización más preferida, el anticuerpo anti-M-CSF se administra a un paciente con cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de pulmón o cáncer de colon. En una realización aún más preferida, el método causa la detención de la proliferación anormal, el aumento del peso o volumen o la disminución del peso o volumen del tumor debido al cáncer.

[0263] El anticuerpo puede administrarse una sola vez, pero más preferentemente se administra varias veces. Por ejemplo, el anticuerpo puede administrarse de tres veces por día a una vez cada seis meses o período mayor. La administración puede realizarse según un programa tal como tres veces por día, dos veces por día, una vez por día, una vez cada dos días, una vez cada tres días, una vez por semana, una vez cada dos semanas, una vez cada mes, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses y una vez cada seis meses. También puede administrarse el anticuerpo en forma continua vía una minibomba. El anticuerpo puede administrarse vía ruta oral, mucosal, bucal, intranasal, inhalable, intravenosa, subcutánea, intramuscular, parenteral, intratumoral o tópica. El anticuerpo puede administrarse en el sitio del tumor o la parte inflamada del cuerpo, en el tumor o la parte inflamada del cuerpo o en un sitio distante del sitio del tumor o la parte inflamada del cuerpo. El anticuerpo puede administrarse una vez, al menos dos veces o al menos durante el período de tiempo necesario para tratar, paliar o curar la condición. Generalmente el anticuerpo será administrado mientras que el tumor esté presente, siempre que el anticuerpo tenga el efecto de detener el crecimiento o disminuir el peso o volumen del tumor, o hasta que esté curada la parte inflamada del cuerpo. Generalmente el anticuerpo será administrado como parte de una composición farmacéutica como la descrita *supra*. La dosificación del anticuerpo estará generalmente en la gama de 0,1-100 mg/kg, más preferentemente 0,5-50 mg/kg, más preferentemente 1-20 mg/kg y aún más preferentemente 1-10 mg/kg. La concentración del anticuerpo en suero puede medirse mediante cualquier método conocido en el arte.

[0264] En otro aspecto, el anticuerpo anti-M-CSF puede co-administrarse con

~~226~~
229

otros agentes terapéuticos, tales como agentes anti-inflamatorios, agentes anti-coagulantes, agentes que disminuirán o reducirán la presión sanguínea, drogas o moléculas anti-neoplásicas, a un paciente que tiene un trastorno hiperproliferativo, tal como cáncer o un tumor. En un aspecto, la invención se refiere a un método para el tratamiento del trastorno hiperproliferativo en un mamífero que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención en combinación con un agente antitumoral seleccionado del grupo formado por, pero no limitado a, inhibidores mitóticos, agentes de alquilación, anti-metabolitos, agentes de intercalado, inhibidores del factor de crecimiento, inhibidores del ciclo celular, enzimas, inhibidores de topoisomerasa, modificadores de la respuesta biológica, anti-hormonas, inhibidores de quinasa, inhibidores de matriz metaloproteasa, productos terapéuticos genéticos y anti-andrógenos. En una realización más preferida, el anticuerpo puede administrarse con un agente antineoplásico, tal como adriamicina o taxol. En otra realización preferida, el anticuerpo o la combinación terapéutica se administra conjuntamente con radioterapia, quimioterapia, terapia fotodinámica, cirugía u otra inmunoterapia. En aún otra realización preferida, el anticuerpo será administrado conjuntamente con otro anticuerpo. Por ejemplo, el anticuerpo anti-M-CSF puede administrarse conjuntamente con un anticuerpo u otro agente conocido por inhibir tumores o la proliferación de células cancerosas, por ejemplo, un anticuerpo o agente que inhibe el receptor erbB2, EGF-R, CD20 o VEGF.

[0265] La co-administración del anticuerpo con un agente terapéutico adicional (terapia de combinación) incluye administrar una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-M-CSF y el agente terapéutico adicional y administrar dos o más composiciones farmacéuticas por separado, una que comprende el anticuerpo anti-M-CSF y la otra (las otras) que comprende(n) el agente (los agentes) terapéutico(s) adicional(es). Además, si bien co-administración o terapia combinatoria significa generalmente administrar el anticuerpo y los agentes terapéuticos adicionales simultáneamente, también incluye casos en los cuales el anticuerpo y los agentes terapéuticos adicionales son administrados en tiempos diferentes. Por ejemplo, el anticuerpo puede administrarse una vez cada tres días, mientras que el agente terapéutico se

administra una vez por día. Alternativamente, el anticuerpo puede administrarse antes o después del tratamiento del trastorno con el agente terapéutico adicional. Similarmente, el anticuerpo anti-M-CSF puede administrarse antes o después de otra terapia, tales como radioterapia, quimioterapia, terapia fotodinámica, cirugía u otra inmunoterapia.

[0266] El anticuerpo y uno o más agentes terapéuticos adicionales (la terapia combinatoria) pueden administrarse una vez, dos veces o al menos durante el periodo de tiempo necesario para tratar, paliar o curar la condición.

Preferentemente, la terapia de combinación se administra varias veces. La terapia combinatoria puede administrarse desde tres veces por día a una vez cada seis meses. La administración puede realizarse según un programa tal como tres veces por día, dos veces por día, una vez por día, una vez cada dos días, una vez cada tres días, una vez por semana, una vez cada dos semanas, una vez cada mes, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses y una vez cada seis meses, o puede administrarse en forma continua vía una minibomba. La terapia de combinación puede administrarse vía ruta oral, mucosal, bucal, intranasal, inhalable, intravenosa, subcutánea, intramuscular, parenteral, intratumoral o tópica. La terapia combinatoria puede administrarse en un sitio distante del sitio del tumor. Generalmente la terapia de combinación será administrada mientras que el tumor esté presente, siempre que el anticuerpo tenga el efecto de detener el crecimiento o disminuir el peso o volumen del tumor.

[0267] En aún otra realización, el anticuerpo anti-M-CSF está marcado con un radiomarcador, una inmunotoxina o toxina, o es una proteína de fusión que comprende un péptido tóxico. El anticuerpo anti-M-CSF o la proteína de fusión que comprende el anticuerpo anti-M-CSF dirige el radiomarcador, inmunotoxina, toxina o péptido tóxico hacia la célula que expresa M-CSF. En una realización preferida, el radiomarcador, inmunotoxina, toxina o péptido tóxico se internaliza después de que el anticuerpo anti-M-CSF se liga al M-CSF sobre la superficie de la célula blanco.

[0268] En otro aspecto, el anticuerpo anti-M-CSF puede usarse para tratar estados no cancerosos en los cuales elevados niveles de M-CSF y/o M-CSF han sido asociados con el estado o enfermedad no canceroso. En una realización, el

método comprende la etapa de administrar una anticuerpo anti-M-CSF a un paciente que tiene un estado patológico no canceroso causado o exacerbado por elevados niveles de M-CSF y/o niveles o actividad de M-CSF. En una realización más preferida, el anticuerpo anti-M-CSF lentifica el progreso del estado patológico no canceroso. En una realización más preferida, el anticuerpo anti-M-CSF detiene o invierte, al menos en parte, el estado patológico no canceroso.

Terapia con genes

[0269] Las moléculas de ácido nucleico de la presente invención pueden administrarse a un paciente que lo necesita vía terapia con genes. La terapia puede ser *in vivo* o *ex vivo*. En una realización preferida, se administran a un paciente moléculas de ácido nucleico que codifican ambas, una cadena pesada y una cadena liviana. En una realización más preferida, las moléculas de ácido nucleico se administran de modo tal que se integran en forma estable en los cromosomas de células B, debido a que estas células están especializadas para producir anticuerpos. En una realización preferida, células B precursoras se transfectan o infectan *ex vivo* y se re-transplantan en un paciente que lo necesita. En otra realización, células B precursoras u otras células se infectan *in vivo* usando un virus conocido por infectar el tipo celular de interés. Vectores típicos usados para terapia con genes incluyen liposomas, plásmidos y vectores virales. Vectores virales típicos son retrovirus, adenovirus y virus adeno-asociados. Después de la infección *in vivo* o *ex vivo*, pueden monitorearse los niveles de expresión del anticuerpo tomando una muestra del paciente tratado y usando cualquier inmunoensayo conocido en el arte o discutido en ésta.

[0270] En una realización preferida, el método de terapia con genes comprende las etapas de administrar una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la cadena pesada o una porción que liga antígeno de la misma de un anticuerpo anti-M-CSF y expresar la molécula de ácido nucleico. En otra realización, el método de terapia con genes comprende las etapas de administrar una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la cadena liviana o una porción que liga antígeno de la misma de un anticuerpo anti-M-CSF y expresar la molécula de ácido nucleico. En un método más preferido, el método de terapia con genes comprende las etapas de administrar una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la cadena pesada o una porción que liga antígeno de la misma y una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la cadena liviana o la porción que liga antígeno de la

329
232

misma de un anticuerpo anti-M-CSF de la invención y expresar las moléculas de ácido nucleico. El método de terapia con genes también puede comprender la etapa de administrar otro agente anti-cáncer, tales como taxol o adriamicina.

[0271] Con el fin de un mejor entendimiento de esta invención, se exponen los ejemplos siguientes. Estos ejemplos tienen solamente el propósito de ilustración y no deben ser interpretados como limitativos de cualquier modo del alcance de la invención.

EJEMPLO I

Generación de líneas celulares que producen anticuerpos anti-M-CSF

[0272] Se prepararon, seleccionaron y ensayaron anticuerpos de la invención como sigue:

Inmunización y generación de hibridomas

Ratones XENOMOUSE™ de ocho a diez semanas se inmunizaron intraperitonealmente o en las plantas de sus patas traseras con M-CSF humano (10 µg/dosis/ratón). Esta dosis se repitió cinco a siete veces durante un período de tres a ocho semanas. Cuatro días antes de la fusión, se administró a los ratones una inyección final de M-CSF humano en PBS. Los linfocitos del bazo y del nodo linfático de los ratones inmunizados se fusionaron con la línea celular no secretoria del mieloma P3-X63-Ag8.653, y las células fusionadas se sometieron a selección en medio HAT como previamente descrito (Galfre y Milstein, *Methods Enzymol.* 73:3-46, 1981). Se recuperó un panel de hibridomas, todos los cuales segregan anticuerpos IgG2 e IgG4 humanos específicos para M-CSF. También se generaron anticuerpos usando la tecnología XENOMAX™ según lo descrito en Babcook, J.S. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:7843-48, 1996. Para estudios adicionales se seleccionaron nueve líneas celulares producidas por ingeniería genética para producir anticuerpos de la invención y se designaron como 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4, 8.10.3 y 9.7.2.

[0272a] Los hibridomas fueron depositados de acuerdo con los términos del Tratado de Budapest en la American Type Culture Collection (ATCC), de 10801 University Boulevard, Manassas, Virginia 20110-2209, el 8 de Agosto de 2003. A los hibridomas les fueron asignados los siguientes números de acceso:

Hibridoma 3.8.3 (LN 15891)	PTA-5390
Hibridoma 2.7.3 (LN 15892)	PTA-5391
Hibridoma 1.120.1 (LN 15893)	PTA-5392
Hibridoma 9.7.2 (LN 15894)	PTA-5393
Hibridoma 9.14.4 (LN 15895)	PTA-5394
Hibridoma 8.10.3 (LN 15896)	PTA-5395
Hibridoma 88-gamma (UC 25489)	PTA-5396

230
233

Híbrido 88-kappa (UC 25490)	PTA-5397
Híbrido 100-gamma (UC 25491)	PTA-5398
Híbrido 100-kappa (UC) 25492)	PTA-5399
Híbrido 252-gamma (UC 25493)	PTA-5400
Híbrido 252-kappa (UC 25494)	PTA-5401

EJEMPLO II

Análisis de genes utilizados

[0273] Se clonó DNA que codifica las cadenas pesada y liviana de los anticuerpos monoclonales 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4, 8.10.3 y 9.7.2 a partir de las líneas celulares de híbrido respectivas y se determinaron las secuencias del DNA mediante métodos conocidos por los entendidos en el arte. Adicionalmente, el DNA de las líneas celulares de híbrido 9.14.4, 8.10.3 y 9.7.2 se sometió a mutación en regiones de framework específicas en el dominio variable y/o se modificó el isotipo para obtener, por ejemplo, 9.14.4I, 8.10.3F y 9.7.2IF, respectivamente. A partir de la secuencia de los ácidos nucleicos y la secuencia de aminoácidos prevista de los anticuerpos, se identificaron los genes usados para cada cadena de anticuerpo ("VBASE"). La Tabla 2 indica los genes utilizados de anticuerpos seleccionados de acuerdo con la invención:

Tabla 2

Utilización de genes de cadenas pesadas y livianas

Clon	Cadena pesada				Cadena liviana kappa		
	SEQ ID NO:	V _H	D _H	J _H	SEQ ID NO:	V _K	J _K
252	1, 2	3-11	7-27	6	3, 4	O12	3
88	5, 6	3-7	6-13	4	7, 8	O12	3
100	9, 10	3-23	1-26	4	11, 12	L2	3
3.8.3	14	3-11	7-27	4	16	L5	3
2.7.3	18	3-33	1-26	4	20	L5	4
1.120.1	22	1-18	4-23	4	24	B3	1
9.14.4I	25, 26	3-11	7-27	4b	27, 28	O12	3
8.10.3F	29, 30	3-48	1-26	4b	31, 32	A27	4
9.7.2IF	33, 34	3-11	6-13	6b	35, 36	O12	3
9.14.4	37, 38	3-11	7-27	4b	27, 28	O12	3
8.10.3	29, 30	3-48	1-26	4b	43, 44	A27	4
9.7.2	45, 46	3-11	6-13	6b	47, 48	O12	3
8.10.3FG1	97, 98	3-48	1-26	4b	31, 32	A27	4
9.14.4G1	101, 102	3-11	7-27	4b	27, 28	O12	3
9.14.4C-Ser	54	3-11	7-27	4b	56	O12	3
9.14.4-CG2	74	3-11	7-27	4b	56	O12	3

237
234

Clon	Cadena pesada				Cadena liviana kappa		
9.14.4-CG4	78	3-11	7-27	4b	56	O12	3
8.10.3C-Ser	58	3-48	1-26	4b	60	A27	4
8.10.3-CG2	62	3-48	1-26	4b	60	A27	4
8.10.3-CG4	94	3-48	1-26	4b	60	A27	4
8.10.3-Ser	90	3-48	1-26	4b	43, 44	A27	4
9.7.2C-Ser	50	3-11	6-13	6b	52	O12	3
9.7.2-CG2	66	3-11	6-13	6b	52	O12	3
9.7.2-CG4	70	3-11	6-13	6b	52	O12	3
9.7.2-Ser	86	3-11	6-13	6b	47, 48	O12	3
9.14.4-Ser	82	3-11	7-27	4b	27, 28	O12	3

[0274] Se llevó a cabo mutagénesis de residuos específicos de las cadenas pesadas y livianas, diseñando cebadores y usando el Equipo para Mutagénesis Dirigida a un Sitio QuickChange de Stratagene, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las mutaciones se confirmaron mediante secuenciación automática, y los insertos mutagenizados se subclonaron en vectores de expresión. Los vectores de expresión se transfectaron en células HEK293 para producir suficientes anticuerpos para la caracterización.

EJEMPLO III

Ensayo de proliferación de células monocíticas de ratón dependiente de M-CSF

[0275] Se condujeron ensayos *in vitro* para medir la proliferación de células monocíticas de ratón dependiente de M-CSF en la presencia de anticuerpos anti-M-CSF para determinar el grado de inhibición mediante anticuerpos anti-M-CSF.

[0276] Se obtuvieron células monocíticas de ratón, células M-NFS-60, de la colección American Type Culture Collection (ATCC) (Manassas, VA) y las células se mantuvieron en medio RPMI-1640 que contiene L-glutamina 2 mM (ATCC), 10% de suero bovino fetal (FBS) (Invitrogen, Carlsbad, CA) inactivado por calor, 2-mercaptoetanol 0,05 mM (Sigma, St. Louis MO) (medio de ensayo) con 15 ng/ml de M-CSF humano. Las células M-NFS-60 se escindieron a 5×10^4 células para ser usadas el próximo día o a $2,5 \times 10^4$ células para ser usadas en 2 días. Antes de usar las células en el ensayo, se lavaron tres veces con RPMI-1640, se contaron y se ajustó el volumen con medio de ensayo a 2×10^5 células/ml. Todos los ensayos se realizaron por triplicado en placas de cultivo de tejido

232
235

tratadas de 96 cavidades (Corning, Corning, NY). A cada cavidad se agregaron 50 μ l de las células lavadas, 100 pM o 1000 pM de M-CSF en un volumen de 25 μ l y un anticuerpo de ensayo o control en varias concentraciones en un volumen de 25 μ l de buffer de acetato (cloruro de sodio 140 mM, acetato de sodio 20 mM y 0,2 mg/ml de polisorbato 80, pH 5,5) hasta un volumen final de 100 μ l. Los anticuerpos de la invención se ensayaron solos y con M-CSF humano. Las placas se incubaron durante 24 horas (h) a 37°C con 5% de CO₂.

[0277] Después de 24 horas, se agregaron 10 μ l/cavidad de 0,5 μ Ci de ³H-timidina (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ) y las células se pulsaron con la timidina durante 3 horas. Para detectar la cantidad de timidina incorporada, las células se cosecharon sobre placas de filtro unifilter GF/C pre-humedecidas (Packard, Meriden, CT) y se lavaron 10 veces con agua. Las placas se dejaron secar durante la noche. Se sellaron las salidas de fondo de las placas filtrantes. Luego, se agregaron 45 μ l de Microscint 20 (Packard, Meriden, CT) por cavidad. Después de sellar la parte superior, las placas se introdujeron en un contador microbeta Trilux (Wallac, Norton, OH) para el conteo.

[0278] Estos experimentos demuestran que los anticuerpos anti-M-CSF de la invención inhiben la proliferación de células monocíticas de ratón en respuesta a M-CSF. Además, usando varias concentraciones de anticuerpos, se determinó la IC₅₀ para la inhibición de la proliferación de células monocíticas de ratón para los anticuerpos 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3 y 9.7.2 (ensayo de proliferación celular, Tabla 3a y Tabla 3b).

Tabla 3a

Anticuerpo	252	88	100	3.8.3	2.7.3	1.120.1
Ensayo de proliferación de células monocíticas de ratón dependiente de M-CSF [IC ₅₀ , M]	1,86 x 10 ⁻¹⁰	2,31 x 10 ⁻¹⁰	7,44 x 10 ⁻¹⁰	7,3 x 10 ⁻¹¹	1,96 x 10 ⁻¹⁰	1,99 x 10 ⁻¹⁰
Ensayo de activación de monocitos de la sangre entera humana [IC ₅₀ , M]	8,67 x 10 ⁻¹⁰	5,80 x 10 ⁻¹⁰	1,53 x 10 ⁻¹⁰	8,6 x 10 ⁻¹¹	7,15 x 10 ⁻¹⁰	8,85 x 10 ⁻¹⁰

233
236

Anticuerpo	252	88	100	3.83	2.73	1.120.1
Ensayo de inhibición de ligadura al receptor [IC ₅₀ , M]	7,47 x 10 ⁻¹⁰	4,45 x 10 ⁻¹⁰	1,252 x 10 ⁻⁹	7,0 x 10 ⁻¹¹	3,08 x 10 ⁻¹⁰	1,57 x 10 ⁻¹⁰

Tabla 3b

Anticuerpo	9.14.4I	8.10.3F	9.7.2IF	9.14.4	8.10.3	9.7.2
Ensayo de proliferación de células monocíticas de ratón dependiente de M-CSF [IC ₅₀ , M]	2,02 x 10 ⁻¹⁰	4,13 x 10 ⁻¹⁰	7,37 x 10 ⁻¹⁰	2,02 x 10 ⁻¹⁰	4,13 x 10 ⁻¹⁰	7,37 x 10 ⁻¹⁰
Ensayo de activación de monocitos de la sangre entera humana [IC ₅₀ , M]	2,49 x 10 ⁻¹⁰	4,46 x 10 ⁻¹⁰	1,125 x 10 ⁻⁹	6,48 x 10 ⁻¹⁰	2,8 x 10 ⁻¹⁰	1,98 x 10 ⁻¹⁰
Ensayo de inhibición de ligadura al receptor [IC ₅₀ , M]	2,97 x 10 ⁻¹⁰	9,8 x 10 ⁻¹¹	5,29 x 10 ⁻¹⁰	4,1 x 10 ⁻¹¹	1,5 x 10 ⁻⁹	6 x 10 ⁻¹²

EJEMPLO IV

Ensayo de activación de monocitos de la sangre entera humana

[0279] Se condujeron ensayos *in vitro* para medir los cambios de forma de monocitos dependientes de M-CSF en la presencia de anticuerpos anti-M-CSF para determinar si los anticuerpos anti-M-CSF eran capaces de inhibir la activación de monocitos de la sangre entera humana y su grado de inhibición de las modificaciones de la forma de los monocitos.

[0280] En cavidades individuales de una placa de cultivo de tejidos de 96 cavidades se mezclaron 6 µl de anti-M-CSF 1,7 nM y 94 µl de sangre humana entera para una concentración final de 102 pM del anticuerpo anti-M-CSF. Las placas se incubaron a 37°C en un incubador de cultivo de tejido en atmósfera de CO₂. Luego, las placas se sacaron del incubador. A cada cavidad se agregaron 100 µl de una solución de fijador (0,05% de formalina en solución fisiológica buferada con fosfato sin MgCl₂ ó CaCl₂) y las placas se incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente. Para cada muestra se mezclaron 180 µl de cada cavidad y 1 ml de buffer de lisis de eritrocitos. Los tubos se agitaron durante 2 segundos con

23X
237

formación de vórtice. Luego, las muestras se incubaron a 37°C durante 5 minutos en un baño de agua con vibración para someter los eritrocitos a lisis, pero dejando intacto los monocitos. Inmediatamente después de esta incubación, las muestras se leyeron en un aparato de barrido de células activadas por fluorescencia (FACS) (FACS BD Beckman) y los datos se analizaron utilizando la versión 3.4 del software para el aparato FACS.

[0281] Estos experimentos demostraron que los anticuerpos anti-M-CSF de la invención inhiben cambios de forma de monocitos en comparación con muestras de control. Usando el ensayo de cambio de forma de monocitos, se determinó la IC₅₀ para los anticuerpos 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3 y 9.7.2 (activación de monocitos en sangre entera humana, Tabla 3a y Tabla 3b).

EJEMPLO V

Ensayo de inhibición de ligadura al receptor *c-fms*

[0282] Se condujeron ensayos *in vitro* para medir la ligadura de M-CSF al receptor *c-fms* en la presencia de anticuerpos anti-M-CSF para determinar si los anticuerpos anti-M-CSF eran capaces de inhibir la ligadura de M-CSF al receptor *c-fms* y su grado de inhibición.

[0283] Se lavaron células NIH-3T3 transfectadas con células *c-fms* o M-NSF-60 humanas mantenidos en solución fisiológica de Dulbecco bufferada con fosfato sin magnesio o calcio. Las células NIH-3T3 se separaron de las placas de cultivo de tejidos con tetra-acetato de etilendiamina (EDTA) 5 mM, pH 7.4. Las células NIH-3T3 se volvieron al incubador para cultivo de tejidos durante 1-2 minutos y el frasco (los frascos) se golpeó (golpearon) ligeramente para aflojar las células. Las células NIH-3T3 y las células M-NSF-60 se transfirieron a tubos de 50 ml y se lavaron dos veces con buffer de reacción (1x RPMI sin bicarbonato de sodio que contiene ácido N-2-hidroxietilpiperazin-N'-2-etansulfónico (HBEPES) 50 mM, pH 7.4). Luego, las células NIH-3T3 se resuspendieron en buffer de reacción para una concentración final de $1,5 \times 10^5$ células/ml. Las células M-NSF-60 se resuspendieron en un buffer de reacción para una concentración final de $2,5 \times 10^6$ células/ml.

[0284] Para el ensayo, se mezclaron en un tubo para ligadura 9 µl de una

235
235

solución de sacarosa 0,4 M estéril, 100 µl de 125 I-M-CSF (Amersham, IMQ7228v) a una concentración final de 200 pM en RPMI-1640 que contiene HEPES 50 mM (pH 7,4), 0,2% de albúmina de suero bovino y 100 µl de M-CSF no marcado a una concentración final de 200 nM. Luego, se agregaron 50 µl/tubo de concentraciones crecientes de un anticuerpo de ensayo. Con el fin de determinar la ligadura no específica de los anticuerpos, incluimos muestras a las cuales también agregamos M-CSF 200 nM. A los tubos de control no agregamos anticuerpo. Luego, por tubo se agregaron 15.000 células NIH-3T3 o 250.000 células M-NSF-60. Todos los tubos se incubaron a temperatura ambiente durante 3 horas y se sometieron a centrifugación a 10.000 rpm durante 2 min. Se cortaron las puntas de los tubos que contienen las pellas celulares y se determinó la cantidad de M-CSF ligado a las células usando un contador Gamma Packard Cobra II. Se determinó la ligadura específica sustrayendo la ligadura no específica de la ligadura total. Todos los ensayos se realizaron por duplicado. Se analizaron los datos de ligadura usando el programa de computación Graph Pad Prism 2.01.

[0285] Estos experimentos demuestran que los anticuerpos anti-M-CSF de la invención inhiben la ligadura de M-CSF al receptor *c-fms* en comparación con muestras de control. Además, usando varias concentraciones de anticuerpos, se determinó la IC_{50} para la inhibición de la ligadura al receptor para los anticuerpos 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3 y 9.7.2 (ensayo de inhibición al receptor, Tabla 3a y Tabla 3b).

EJEMPLO VI

Determinación de constantes de afinidad (K_D) de anticuerpos monoclonales anti-M-CSF mediante BIACORE™

[0286] Se realizaron mediciones de afinidad de anticuerpos purificados mediante resonancia en la superficie de un plasmón usando el instrumento BIACORE™ 3000, siguiendo los protocolos del fabricante.

[0287] Para los anticuerpos 3.8.3, 2.7.3 y 1.120.1, los experimentos se realizaron en un instrumento BIACORE™ 3000 a 25°C en solución fisiológica bufferada con fosfato de Dulbecco que contiene 0,0005% de Tween-20. Las concentraciones de proteína se obtuvieron a partir de experimentos de velocidad de sedimentación o midiendo la longitud de onda de la muestra a 280 nm, usando coeficientes de

extinción teóricos derivados de secuencias de aminoácidos. Para los experimentos que miden la ligadura del anticuerpo a antígenos inmovilizados, se inmovilizó M-CSF sobre un chip B1 mediante procedimientos estándar de copulación directa con amina. Para los anticuerpos 3.8.3, 2.7.3 y 1.120.1 se prepararon muestras con una concentración de 0,69 μM . Estas muestras se diluyeron mediante una serie de 3 diluciones a 8,5 nM ó 2,8 nM para obtener concentraciones en la gama aproximada de 1:100. Para cada concentración, las muestras se inyectaron por duplicado con una velocidad de flujo de 5 $\mu\text{l/min}$ durante 4 min. Se monitoreó la disociación durante 2000 segundos. Los datos se ajustaron globalmente a un modelo de ligadura simple 1:1 usando el software BIACORE™ Biaevaluation. Este método se usó en todos los casos para obtener k_{off} y se encontró que este conjunto de datos se comparó bien con el obtenido a partir del ajuste global de los datos de asociación y disociación.

[0288] Para los anticuerpos 252, 88 y 100, los experimentos se realizaron en un instrumento BIACORE™ 3000 a 25°C en buffer HBS-EP (HEPES 0,01 M, pH 7,4, NaCl 0,15 M, EDTA 3 mM, 0,005% de agente tensoactivo Surfactant P20). Para los experimentos que miden la ligadura del anticuerpo a antígenos inmovilizados, se inmovilizó M-CSF sobre un chip sensor CMS Research Grade Sensor mediante procedimientos estándar de copulación directa con amina. Las muestras de anticuerpos se prepararon con una concentración 12,5 nM para los anticuerpos 252 y 100 y con una concentración de 25,0 nM para el anticuerpo 88. Estas muestras se diluyeron mediante una serie de dos diluciones a 0,78 nM para obtener concentraciones en la gama aproximada de 1:15-30. Para cada concentración, las muestras se inyectaron por duplicado en orden aleatorio con una velocidad de flujo de 30 $\mu\text{l/min}$ durante 3 min. La disociación se monitoreó durante 300 seg. Los datos se ajustaron globalmente a un modelo de ligadura simple 1:1 usando el software BIACORE™ Biaevaluation. Este método se usó en todos los casos para obtener k_{off} y se encontró que este conjunto de datos se comparó bien con el obtenido a partir del ajuste global de los datos de asociación y disociación.

[0289] La Tabla 4 muestra los resultados para los anticuerpos 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3 y 1.120.1.

232
240

Tabla 4

	252	88	100	3.8.3	2.7.3	1.120.1
$K_D(M)$	$1,33 \times 10^{-11}$	$1,33 \times 10^{-9}$	$2,0 \times 10^{-11}$	$4,0 \times 10^{-10}$	$4,7 \times 10^{-9}$	$5,4 \times 10^{-9}$
$k_{off}(1/s)$	$1,03 \times 10^{-6}$	$7,3 \times 10^{-5}$	$1,7 \times 10^{-3}$			

EJEMPLO VII

Producción de anticuerpos 8.10.3 a partir de células híbridoma 8.10.3

[0290] Se produjo el anticuerpo 8.10.3 en frascos "sparged spinners" de 3L. El frasco "sparged spinner" de 3L es un recipiente de vidrio (N.del T.: frasco de vidrio con entradas laterales) en el cual se mezclan cultivos con un rotor controlado mediante una plataforma magnética (N.del T.: en lo sucesivo se hace referencia a "sparged spinner" como "frasco con rotor"). El frasco "spinner" se conecta a líneas de gas para proveer aire con 5% de CO₂. Las células híbridoma 8.10.3 se descongelaron inicialmente en frascos de cultivo celular T-25. Las células se expandieron progresivamente hasta que hubo un número suficiente de células para sembrar en los frascos con rotor (sparged spinners).

[0291] Dos frascos con rotor de 3L se sembraron con células híbridoma 8.10.3 en medio para híbridomas libre de suero con los agregados mencionados en la Tabla 5 para los dos frascos con rotor. Las concentraciones indicadas para suero IgG Ultra low (Gibco cat# 16250-078), L-glutamina (JRH Biosciences cat# 59202-500M), aminoácidos no esenciales (Gibco cat# 11140-050), Peptona (Difco cat# 211693), glucosa (solución patrón preparada en casa a partir de glucosa JT Baker cat# 1920-07), y agente anti-espumante C (Sigma cat.# A-8011) son las concentraciones finales en el medio. El balance de volumen en cada reactor es medio para híbridomas libre de suero.

Tabla 5. Condiciones para cultivar híbridomas 8.10.3 en dos frascos con rotor (sparged spinners) de 3L.

Condiciones	Spinner 1	Spinner 2
Densidad de sembrado (1×10^5 células/ml)	0,16 ml	0,16 ml
Medio para híbridomas libre de suero (Gibco cat# 12045-076)	Balance	Balance
Suero IgG Ultra low (Gibco cat# 16250-078)	5%	5%

238
241

Condiciones	Spinner 1	Spinner 2
L-glutamina (JRH Biosciences cat# 59202-500M)	8 mmol/L	8mmol/L
Aminoácidos no esenciales (Gibco cat# 11140-050)	1%	1%
Peptona (Difco cat# 211693)	1g/L	1g/L
Glucosa 2 M (patrón preparado en casa a partir de JT Baker cat# 1920-07)	8g/L	8g/L
Agente anti-espumante C (Sigma cat.# A-8011)	1ml/L	1ml/L

[0292] Los cultivos se cultivaron durante 15 días y se cosecharon cuando la viabilidad era menor de 20%. La viabilidad se determinó mediante el método de exclusión con azul tripano con un contador de células automático (Cedex, Innovatis). La recolección se realizó mediante centrifugación y filtración subsecuente. Después de una centrifugación durante 15 minutos a 7000 rpm y filtración subsecuente por un filtro estéril Millipore Opticap 4" de 0,22 μ m (cat# KVSCO4HB3) en una bolsa estéril TC-Tech de 10L (cat # P/N 12420 Bag Style CC-10-112420). Luego el filtrado se purificó según lo indicado en el ejemplo siguiente.

EJEMPLO VIII

Purificación de un anticuerpo anti-M-CSF

[0293] Se preparó una columna de proteína A (Amersham Pharmacia) mediante el lavado con 3 volúmenes de columna de urea 8 M, seguido por un lavado de equilibración con Tris 20 mM (pH 8). Al filtrado final del Ejemplo VII se agregaron 2% v/v de Tris 1 M pH 8,3 y 0,02% de NaN₃ antes de cargarlo en la columna de proteína A vía el método de goteo por gravedad. Después de completar la carga, la resina se lavó con 5 volúmenes de columna de Tris 20 mM (pH 8), seguido por 5 volúmenes de columna del buffer de elución (glicina 0,1 M, pH 3,0). Se anotó cualquier precipitación y luego se agregó al anticuerpo eluido un agregado de 10% v/v de Tris 1 M, pH 8,3. Luego, la proteína eluida se dializó en un volumen de buffer de diálisis (NaCl 140 mM / acetato de sodio 20 mM, pH 5,5) 100 veces mayor que la cantidad del material eluido. A continuación del diálisis, el anticuerpo se filtró estéril con un filtro de 0,22 μ m y se almacenó hasta uso posterior.

242

EJEMPLO IX

Tratamiento de monos y conteos de monocitos

[0294] A un mono cynomologus macho y una hembra por grupo de dosificación se administró intravenosamente vehículo o anticuerpo 8.10.3 (producido según lo descrito en los Ejemplos VII y VIII) en una dosis de 0; 0,1; 1 ó 5 mg/kg en un volumen de dosis de 3,79 mL/kg durante un período de aproximadamente 5 minutos. Las muestras de sangre para el análisis en el laboratorio clínico se recolectaron a las 24 y 72 horas después de la administración de la dosis y semanalmente durante 3 semanas. Los conteos de monocitos se determinaron mediante dispersión de la luz usando un sistema Cell Dyn de Abbott Diagnostics Inc. (Abbott Park, Illinois).

[0295] Con todas las dosis se observó una disminución (~25% a 85%) del total de monocitos en relación con la dosis administrada (Figuras 1A y 1B). A la semana 2, los conteos de monocitos con las dosis de 0,1 y 1 mg/kg parecen rebotar hasta niveles cercanos al control, mientras que los conteos de monocitos con la dosis de 5 mg/kg siguen disminuyendo a la semana 3.

Análisis del subconjunto de monocitos CD14+CD16+

[0296] Se extrajo sangre entera de primates en tubos Vacutainer que contienen heparina sódica. 0,2 ml de cada muestra de sangre se agregaron a un tubo de centrifuga cónico de polipropileno de 15 ml que contiene 10 ml de buffer de lisis de eritrocitos (Sigma), y se incubaron en un baño de agua a 37°C durante 15 minutos. Luego los tubos se centrifugaron en una centrífuga Sorvall RT7 durante 5 minutos a 1.200 rpm. El sobrenadante se aspiró, la pella se resuspendió en 10 ml de buffer FACS a 4°C (solución salina balanceada de Hank / 2% de FBS / 0,02% de azida sódica), y el tubo se centrifugó nuevamente durante 5 minutos a 1.200 rpm. El sobrenadante se aspiró y la pella se resuspendió en un cóctel de anticuerpos que consiste de 80 µl de buffer FACS a 4°C, 10 µl de anticuerpo monoclonal anti-CD14 humano conjugado con FITC (BD Biosciences, San Diego, CA), 0,5 µl de anticuerpo monoclonal anti-CD16 humano conjugado con Cy5-PE (BD Biosciences, San Diego, CA), y 10 µl de anticuerpo monoclonal anti-CD89 humano conjugado con PE (BD Biosciences, San Diego, CA). La suspensión celular se incubó sobre hielo durante 20 minutos, después de lo cual se agregaron

243

10 ml de buffer FACS a 4°C y las células se centrifugaron como anteriormente. El sobrenadante se aspiró, y la pella celular se resuspendió en 400 µl de buffer FACS y las células se analizaron con un citómetro de flujo FACSCaliber (BD Biosciences, San Jose, CA). Para cada muestra se recolectaron datos para 30.000 células.

[0297] La población de monocitos se identificó mediante una combinación de mediciones de la dispersión de la luz delante (forward) y a un ángulo de 90° (ortogonal) de la luz incidente. Las células del tipo monocito se analizaron adicionalmente por la expresión de CD14 y CD16. Se observaron dos poblaciones distintas de monocitos, una que expresa elevados niveles de CD14 con poca o ninguna expresión de CD16 (CD14++CD16-) y la otra que expresa niveles menores de CD14, pero niveles elevados de CD16 (CD14+CD16+), similar a los dos subconjuntos de monocitos descritos previamente en sangre periférica humana (Ziegler-Heitbrock H.W., *Immunology Today* 17:424-428 (1996)). Para cada primate ensayado se determinó el porcentaje de monocitos dentro del subconjunto CD14+CD16+, después de cada extracción de sangre realizada los días 1, 3, 7, 14 y 21 después de la inyección de 8.10.3.

[0298] En general, el tratamiento con 8.10.3 resultó en una reducción del porcentaje de monocitos CD14+CD16+ (vea Figuras 2A y 2B). Los monos que no recibieron anticuerpo 8.10.3 mostraron niveles de monocitos CD14+CD16+ relativamente estables. Los monocitos CD14+CD16+ recibieron la denominación "proinflamatorios" debido a que producen niveles mayores de TNF-α y otras citoquinas inflamatorias (Frankenberger, M.T., *et al.*, *Blood* 87:373-377 (1996)). También se informó que la diferenciación entre los monocitos CD14++CD16- del fenotipo convencional y aquellos del fenotipo proinflamatorio depende del M-CSF (Saleh M.N., *et al.*, *Blood* 85: 2910-2917 (1995)).

EJEMPLO X

Tratamiento de monos y conteos de monocitos

[0299] A tres monos cynomolgus machos por grupo de dosificación se administró intravenosamente vehículo (acetato de sodio 20 mM, pH 5,5, NaCl 140 mM), anticuerpo 8.10.3F purificado o anticuerpo 9.14.4I purificado con una dosificación de 0, 1 ó 5 mg/kg en un volumen de dosificación de 3,79 mL/kg

244
244

durante un período de aproximadamente 5 minutos. Los monos tenían una edad de 4 a 9 años y pesaron de 6 a 10 kg. Los días 2, 4, 8, 15, 23 y 29 después de la administración se recolectaron muestras de sangre para su análisis en el laboratorio clínico. Los conteos de monocitos se determinaron mediante dispersión de la luz usando un sistema Cell Dyn de Abbott Diagnostics Inc. (Abbott Park, Illinois). [0300] Se observó una disminución del cambio porcentual del número total de monocitos para todas las dosis de anticuerpo 8.10.3F y anticuerpo 9.14.4I en comparación con los niveles de monocitos previo al ensayo (Figuras 3A y 3B) (vea, por ejemplo, día 4, 8, 15 y 23 en Figuras 3A y 3B).

[0301] Todas las publicaciones y solicitudes de patente citadas en esta memoria descriptiva se incorporan en ésta por referencia, como si hubiese sido indicado específicamente e individualmente para cada publicación o solicitud de patente. A pesar de que la invención precedente se describió a modo de ilustración en forma detallada y se dieron ejemplos con el propósito de claridad de entendimiento, será fácilmente aparente para los entendidos en el arte que en base a las enseñanzas de esta invención pueden efectuarse ciertos cambios y modificaciones a la misma, sin apartarse del espíritu o alcance de las reivindicaciones adjuntas.

242
245

SECUENCIAS

Clave:

Péptido señal: minúsculas subrayadas

Regiones determinantes complementarias (CDRs) 1,2,3: MAYÚSCULAS subrayadas

Dominio variable: MAYÚSCULAS

Dominio constante: minúsculas

Mutaciones de la línea germinal en negrita

SEQ ID NO: 1

Secuencia nucleotídica de la cadena pesada [cadena gamma] de 252

atgagtgaggagctgctgctgagatttctgttctctatataaaaggtgtccastgtCAGGTGCAGCTGGTG
GAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCC
GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTTATACATTAGTGGTA
GTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCAT
CTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAAATGAACAGCCT
GAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATCACTGTGCGAGAGCCCTGGGTGG
GATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCTCAGCTtcca
ccaaggcccatccgtcttccccctgggcccctgctctagaagcaccctccgagagcacagggcccctgggtgctg
gtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgctgtgaactcaggcgtctgaccagcggtgacacaccttccc
agctgtctcagcttctcaggactctacttccctcagcagcgtgtgtgacccgtgcccctccagcacttccgacccagac
ctacacctgcaacgtatgacacagcccgcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtgagt
gcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagcttcttcttcccccaaaacccaaggacaccttatga
tctccggacccttgaggtcacgtgcgtgtgtgtggacgtgagccacgaagaccccagggtccagttcaactgtgtac
gtggacggcgtggagggtgcatatgccaaagcaaaagccagggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtgtca
gctgtctcaccgttgtgacccaggactggctgaacggcagggagtacaggtgcaaggtctccaaagggcctccca
gcccccatcgagaaaccatctccaaaccaaagggaagccccgagaccacaggtgtacacctgcccccatccc
gggaggagatgaccaagaccaggcagcctgacctgacctggtcaaggtcttaccaccagcagatcggcgtgga
gtgggagagcaatgggagggcggaacactacagaccacacctccatgctgactccgacggctcttcttctc
tctacagcaagctcaccgtgggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggct
ctgcacaaccactacacgcaagagagccttctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO: 2

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 252

melglwiflvaikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS~~SD~~Y~~Y~~MSWIR
QAPGKLEWISYISGSGST~~TY~~YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE
DTAVYHCARALGGMDYWGQGT~~TV~~TVSSA~~stkgpsvfp~~lapcarstse~~ta~~algc~~lv~~kdyfp
epv~~iv~~awns~~gal~~tagvhtfpav~~l~~qasglyalssvvtvpasnfgtq~~ty~~tcavdhkpsntkvdktver~~kcc~~veppcp
appv~~ag~~psv~~fl~~fp~~pk~~pd~~tl~~mi~~ar~~tp~~ev~~tcv~~vd~~vahedpe~~vq~~frwyvdgve~~vh~~naktkpre~~eq~~fnst~~fr~~vsv
ltvvhqdw~~ing~~key~~ck~~vank~~gl~~papiek~~ti~~aktkgqpre~~p~~vytlpparecm~~tk~~nqvalic~~lv~~kgy~~p~~adiave
wesngqpennyk~~tp~~pmldadga~~fl~~lyakltvd~~kar~~wq~~q~~gnvfscsvmhcalhnh~~yt~~qkalsl~~ap~~gk

atgaagggtccctctcagcctctctgggctctctctctctctctccaggtcccaatgtGACATCCAGAT
GAOCCAGTCTCCATCCTCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAAGCATTAGCGGCTTTTTAAATTGGTATC
AGCAGAAAACAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTACATCCA
GTTTGCAAAAGTGGGGTCCCATTCAAGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGA
CAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTGTGCAACCTGAAGATTTTGCAAC
TTATTACTGTCAACAGAGTTACAGTGTCCCATTCACTTTCGGCCCTGGG
ACCAAAAGTGGATATCAAAACGAactgtggctgcaacatctgtcttcattcttccggcaatctgaltgac
agttgaatctggaaactgctagcgtttgtgtcctgtgaaatnactctatcccaagagaggccaaagtaagtggaaggt
ggataacgcccctcaatcgggttaactcccgaggagatgttcaacagagcagggaagcagaaggaacagcaacctacagctc
agcagaccctgacgtgtagcaagaagactacgagaacaacaaagtctacgctcggaagtcacctacagggcc
tgaactcgccttcacaaagacttcacaggggaaggt

mrpqagllglllwrgarqDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQISGFLNWFYQQK
PGKAPKLLIYATSSLOSQVPRFRFGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS
YSVPETFGPGTKVDIKRtvaapsvfiippadeqlksgtasvvelnnfyfpreakvqwkvdnalsqns
qesvtgdkdstylasettlakadyekhkvyacevthqslspvtksfrgec

[illegible]

24x
247

SEQ ID NO: 6

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 88

mefglcwvflvailegvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYWMSWV
RQAPGKGLEWVANIKODGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSL
RAEDTAVYYCAPGIAAAGRAYWGQGTLVTVSSAstkgspsvflapcarstacstaalgcl
vkdyfpcpvtvwnsgaltsgvhtfpavlgssglyalsvvtvpsanfgtqytycnvdhkpantkvdktverkccv
ecppcpappvaggpsvflfppkpkdtlmiartpcvtcvvdvahedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfns
tfrvsvltvvhqdwlngkeykckvankglpapiektisktkgprepqvytippareemtknqvsltelvkgfyp
sdiaveweanqpennyktpmldsdgafflyskltvdkarwqqgnvfscsvmhcalhnhytqkalslspgk

SEQ ID NO: 7

Secuencia nucleotidica de la cadena liviana [cadena kappa] de 88

atagggctccctgctcagctcctgggactcctactactctgctccgaggtccagatgtGACATCCAGAT
GAACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTTGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGCCAAGTCAGGACATTAGCAGTTATTTAAATTGGTATC
AGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCA
GTTTGCAAAGTGGGGTCCCATTAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGA
CAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAAC
TTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCATTCACTTTCGGCCCTGGG
ACCAAAGTGGATATCAAACGAactgtgctgcacatctgtcttcctctccgccatctgatgagc
agttgaatctggactgctagcgttggtgtgcctgctgaatacttctatccagagaggccaaagtacagtggaggt
ggataacgccctccaatcgggtaactccagagaggtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctc
agcagcacctgacgctgagcaaaagcagactacgagaacacaaagctacgcctgagagtcacccatcagggcc
tgagctcggccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtggt

SEQ ID NO: 8

Secuencia proteica de la cadena liviana [cadena kappa] de 88

mrtpaellellliwrgarcDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTCRFPSODISSYLNWYQQK
PGKAPKLLIYAASSLOSQGVPLRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQOS
YSTPETFPGPTKVDIKRtvaapavfifppadeqlkgtasvvcinnfyreakvqwkvdnalqagns
qearvteqdadkdstyalastitlakadyekhkvyacevthqglaspvtksfargcc

SEQ ID NO: 9

Secuencia nucleotídica de la cadena pesada [cadena gamma] de 100

atgagatttggcgcctcgcctgaattttttctgtgcctatttttaaaagctctgcagtgAGGTCAGCTGTTG
 GAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
 TGTGCAGCCTCTGGAATTCACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCC
 GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGGTCTCAGCTATTAGTGGTC
GTGGTGGTAGGACATACTTCGCAGACTCCGTTGAAGGGCCGTTTACCA
 TCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGAACAGCC
 TGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTCTGTGCGGTAGAAAGGCTATA
GTGGGCGCTACGGATTTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCTTAGTCAC
 CGTCTCTCAGCCttcaacaaggggcccatctgggtcttcccctggcgcctctgctctgaagcaactccgag
 agcacaagggccctgggctgacctgggtcaagggtactctcccgaaccggtgacgggtgtctgtggaacicaaggcgctct
 gaccagcggcgigcacaccttccagctgtctctacagtcttcagggtctctactccctacagcagggtgggtgaccgtgcc
 ctccagcaacttggcaccacgaacctacacctgcacgtaatcacaaagcccaagcancaccnaagggtggacaagaca
 gttgagcgcaaatgtgtgtctgagtgccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttctcttccc
 caaaaccnaaggcaccctctatgatctccgggaccctctgaaggtaacgtgctgtgtgtggacgtgagccacgaaga
 ccccgaggttcacgttcaactggttactgtgacggcggtggaggtgcataatgccaaagcaaaagccacgggaggggca
 gticacacagcagcttccgtgtgtgacagctctcaccgttgtgcaccaaggactgtgcgaacggcgcaaggagttacaagt
 caagggtctcaacaagggcctccagccccctctgagaaaaacctctcnaaaaccnaaggggcagcccgagaaac
 acaggtgtacacgttccccctccggggaggaatgacaaagaaacccaggtcagcttgcacctgcctgttcaaaaggc
 ttctacccgaacgcacatcgccgtgaggtggaggaagcaatgggacgggaggaacacctcaagaccacacctcca
 tgcctgnaactccgacgggtctcttctctctacagcaagcctacccgtggcnaagacaggtgtggcagcaggggaacgtc
 ttctatgctctcgtatgcatgaggtctgcacaaccctacacacagaaagacgtctccgtgtctccgggtaaa

SEQ ID NO: 10

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 100

mefglrwifwllkqvqgEVQLLESGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSSYAMSWVR
QAPGKGLEWVSAISGRGGRTYFADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA
EDTAVYFCAVEGYSGRYGFFDYWGQGLTVTVSSAsikgpsvfplapcarstestaal
gclvkdyfppevtvwnsgaltsgvhtfpavllqssglyalssvvtvpasnfgtqytycnvdhkpantkvdktverkc
cvecppcpappvagsavflfpkpkdthimartpevicvvvdvahedpevqfnwyvdgvevhnaktipreeqf
nstrvsvltvvhqdwlngksyckvankglpapiekiaiktkgqprepqvytlpparecmtnkqvaltclvkgf
ypadiaveweangqpennykthppmildadgsffilyakltvdkrwqqgnvfacvrmhcalhahytkalslspg
k

SEQ ID NO: 11

Secuencia nucleotídica de la cadena liviana [cadena kappa] de 100

agaaagcccccagctcagcgtgtcttctcctcctgactctgtgctccagatccactggaGAAATAGTGTATG
 ACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
 CTCTCTGCAAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAACTTAGCCTGGTACC
 AGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAC
 CAGGGCCAGTGGTATCCAGACAGGATCAGTGGCAGTGGGTCTGGAAC
 AGAGTTCACTCTCATCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGAGTT
 TATTACTGTGAGCAGTCTAATAACTGGCCATTCACTTCGGCCCTGGGA
 CCAAAGTGGATATCAAACGAactgtggctgcacattgtcttcatcttcccgccattgatgagca
 gttgaantcggaaactgtagcgtgtgtgctgctgaafaaacttctatccagagaggccaaagtacagtggaaggtg
 gntaacgccctccaaatcgggtgaactccaggagagtgctcagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctca
 gcagcaccctgaagctgagcaaaagcagactacgagaacacaaagctctacgcttgcgaagtcacccatcagggcct
 gagctcgcctgtcacaaagagcttcaacaggggagagtggt

SBQ ID NO: 12

Secuencia proteica de la cadena liviana [cadena kappa] de 100

measpqllflllwpdttgHIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQ
KPGQAPRLLIYGASTRASGIPDRISGSGSGTEFTLIISLQSEDFAVYYCOOS
NNWPFIFGPGTKVDIKRvaapavfifppadeqlkagtasvvelnnfyreakvqwkvdnalsgn
sgesvtecdskdstyalstltlskadyekhkvyacevthqglspvtkfnrgec

SEQ ID NO: 14

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 3.8.3

mefglswvflvajkvgqQVQLVRSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTTSDYYMSWI
RQAPGKGLEWFSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLSLQMNSLRA
EDTAVYYCARGLTGPDYWGQGTLLVTVSSAstkgsvfplapcarstestaalgc/vkdyfpe
pvtvwnsgaltgvthtfpavllqssglyalssvvtvpsanfgtqytycnvdhkpamtkvdtkverkcceoppcpa
ppvaggpsvflfpplpkdltlmsrtpevtcvvdvahedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnatfrvsvlt
vvhqdwlngkcykckvankghpapiektiaktkgqprepqvyltpareentlmqvaltlcvkgfypadiavew
eamggpennyykttopmlsdadgafllyakltvdkarwqggnvfacvnhhealhnhytqalslsppgk

SEQ ID NO: 16

Secuencia proteica de la cadena liviana [cadena kappa] de 3.8.3

mdmrvpaqllelllwfpsrcDIQMTQSPSSVSASVGDRVTISCRASODISGWLAWY
QKPGKAPKLLISATSSLHSGVPSRFRSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC
QQTNSFPTFGPGTKVDIKRtvaspsvfippsdeqlkgstasvcllmfypreakvqwkvdnalq
sgnsqevteqdsksdtyalsstltskadyekhkvyacevthqglaspvtksfmrgcc

250

SEQ ID NO: 18

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 2.7.3

mefzleavvflvalrrggcQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWV
RQAPGKGLEWVAFIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCARGYRVYFDYWGQGTLVTVSSAstkgpsvfplapcarstestaalgc
vkdyfpepvtvawnagaltsgvhtfpavlaqaglyslasvvtvpsalgtctytcnvdhkpsntkvdkrweakygp
pcpaspapeflggpsvflfppkpkdtlmiartpevtcvvvdvaqedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfna
tyrvsvitvlhqdwngkeykckvmkgpsaiektiakagqprepqvytlppsqcemtknqvaitclvkgy
pdiaveweangqpennyktppvldsdgafflyarltvdkarwqegnvfscvmhealhnhytqkalalapgk

SEQ ID NO: 20

Secuencia proteica de la cadena liviana [cadena kappa] de 2.7.3

mdmrtpaqllglllwfpgarDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASODISSWLAWY
QRKPGKAPK LQIYAASSLESGVPSRFNGSGSGTDFTLSSISLQPEDFATYYC
QQTNSFPLTFGGGTKEIKRtvaapsvflfppadeqlksgtasvvcilnnfypreakvqwkvdnal
qsgnaqesvteqdadstyslssttlakadyekkhkvyacevthqglaspvtksfmgcc

SEQ ID NO: 22

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 1.120.1

mawtwslflivaastgahQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWV
RQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAOKLQDRVTMTTDTSTTTAYMBELRS
LRSDDTAVYYCARRAYGANFFDYWGQGTLVTVSSAstkgpsvfplapcarstesta
lgclvkdyfpepvtvawnagaltsgvhtfpavlaqaglyslasvvtvpsanfgtqytcnvdhkpsntkvdktverk
ccveccppcpappvaggpsvflfppkpkdtlmiartpevtcvvvdvahedpevqfnwyvdgvevhnaktkpre
qfnstfrvsvitvlhqdwngkeykckvankglpapiektiaktkgqprepqvytlpparecmtnqvaitclvk
gfyppadiaveweangqpennyktppmldsdgafflyakltvdkarwqggnvfscvmhealhnhytqkalalap
pgk

SEQ ID NO: 24

Secuencia proteica de la cadena liviana [cadena kappa] de 1.120.1

mylgtqvfiaillwisgavDIVMTQSPDLSAVSLGERATINCKSSOSILFFSNKNKYL
AWYRQKPGQPPNLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA
VYYCQOYYSSPWTFGGGTKEIKRtvaapsvflfppadeqlksgtasvvcilnnfypreakvq
wkvdnalqsgnaqesvteqdadstyslssttlakadyekkhkvyacevthqglaspvtksfmgcc

248
251

SEQ ID NO: 25

Secuencia nucleotídica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.14.4I

atggatgttgagctgagctgggttttctgttcttattatgaaggtgCCAGTGTTCAGGTGCAGCTG
GTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTC
TCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTATATGAGCTGGA
TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTA
GTAGTGGTAGTACCATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCA
CCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACA
GCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCCTAA
CTGGGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTacc
accaaggcccatcgccttcccttggcgccctgctctagaagcacctccgagagcacagcgccctgggctgct
ggtaaggactacttcccgaaaccggtagcgggtgtgtgtggaactcaggcgctctgaaccggcggtgcacacctcc
cagctgtctcagagctcaggaacttactcctcagcagcgtgtgtgaccgtgacctccagcaacttggcaccaga
cctacacctgcaacgtatcacagccagcaacaccaaggtggacaaagacagttgagcgcaatgttgtgtgag
tgccaccgtgcccagcaaccctgtggcaggaccgtcagcttctcttcccccaaaaccaaggacacccctcatg
atctccggacccctgagggtcagtgctgtgtgtgtgacgtgagccagagaccocgaggttcagttcaactggta
cgtggacggcggtgaggtgcataatgccaaagcaagccacgggagagcagttcaacagcacgttccgtgtgtg
agcgtctcaccgtgtgaccaggaactggtgaacggcaaggagtacaagtcaagggttccaaacaaggcctccc
agcccccctcagagaaaccatctccaaaccaaaggcgagcccgagaaaccaagggtgtacacctgccccatcc
cgggaggagatgaccaagaaccagggtcagctgacctgacctgggtcaaggcttctacccagcgacatcgccgtgg
agtgggagagcaatgggcagccggagaaactacaagaccacacctccatgctggactccgagcgctccttctc
ctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgcttctcatgctcgtgatgcatgagc
tctgcacaaccactacacgagagagcctctcctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO: 26

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.14.4I

mefslswvflvaikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYSWI
RQAPGKGLEWVSYSISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRA
EDTAVYYCARGLTGDYWGQGTLLTVSSAstkgsvflapcarstacataalgcivkdyfpe
pvtvswnsagaltgvhtfpavlaaglyalsavvtvpsanfgtqytenvdhkpantkvdkiverkccvecpopa
ppvagpsvflfppkpkdilmiairpevtcvvvdvahedpevqfnwyvdgvevhnaktikpreoqfnstfrvvavlt
vvhqdwlingkeykckvsnkgfpapiektisktkgprepqvytlppareemtknqvslthvkgfypadiafew
eangqpennykttppmldsdgafllyakltvdkarwqggnvfacsymhealhnhytqkalslspgk

atgacatagaggtcccgctcagctcctggagctcctgactctgacccgaggtgccagatgTGACATCC
 agatGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTGCGAGACAGAGT
 CACCATCACTTGCCGGCCAAGTCAGATCATTAGCAGTTTATTAAATTGG
 TATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCTAAGCTCCTGATCCATGCTGCA
 TCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTG
 GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGTAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGC
 AACTTACTACTGTCAAACAGAGTTACAGTACCCCAATTCACTTTCGGCCCT
 GGGACCAAAGTGGATATCAAACGAactgtggtgcacatctgtcttcatcttcccgccatctga
 ttagcagttgaatctggaactgcctctgtgtgtgctgtgataactctatcccgagagagccaaagtacagtga
 aggtgataacgccctccactgggtactccaggagagtgacagagcaaggacagcaactaca
 gctcagcagcaccctgacgtgagcaagcagactacgagaacacaaagtctacgctgcgaatgccaccatca
 ggcctgagctcgcccgtracaanagcttcaacagggagaggtgt

mdmrvpaqllgllilwlgarcDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRPSQISSLNHWYQ
QKPGKAPKLLIHAAASSLSQGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ
QSYSTPFTFGPGTKVDIKRtvaaspvfifppdeqlkgstasvclinnfypreakvqwkvdnslqs
gnsqesvteqdskdetyalsstltlakadyekhkvyacevthgslspvtksfargec

Secuencia nucleotídica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.14.4



Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.14.4

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.14.4C-Ser

MEFLSWVFLVAILKGRVQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAREDVAVYYCARGLTGDYWGQGTLLTVSSASTKGPVSFPLAPCARSTCAALGCHVKDYFPEPVTVSWNGSLTSGVHTFPVAVLQASGLYSLAVSVTPASSLTGTCTYCNVDHKNPTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPFIFGGPVSFVIFPPKPKDITMIARTPEVTCVVVDVSAQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAITKPREEDFNSTYRVAVITLHQDWINGLKRYCKKVSNGLPISAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVALLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGGPPENNYKTTTPVLDADGFFLYARITVDKARWQEGNVFSCRMHEALHNHYTQKLSALPPGK

SEQ ID NO: 56

Secuencia proteica de la cadena liviana [cadena kappa] de 9.14.4C-Ser, 9.14.4-CG2 y 9.14.4-CG4

mdmrvpaqllelllwlgarcDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRPSQISSLNHWYQ
QKPGKAPKLLIYAASSLSQGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQ
QSYSTPFTEGPGTKVDIKRtvaapivfifpsdeqlkagtasvvcilnnfyprcakvqwkvdnalqs
gnsqesvteqdkdatyalsstildakadyekhkvyacevthqglaapvticafnrgec

SEQ ID NO: 74

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.14.4-CG2

mefglawvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI
RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
EDTAVYYCARGLTGDIYWGQGTLLTVSSAstkgsavfplapcarstsestaalgclvkdyfpe
pvtvawnsgaltsgvhtfpavilqasglyalsavvtvpsanfgtqtytcnvdhkpantkvdktverkccevecppcpa
ppvagpsvflfppkpkdltmiartpevtcvvvdvahedpevqfnwyvdgvevhnaktipreeqfnstfrrvsvl
vvhqdwlingkeykckvankglpasiectiakakgpprepqvvtippaqcemtknqvaitclvkgfypsdiavew
eanqgpennykttppmldsdgsfflyakitvdkarwqegnvfacvmhealhnhytqkalslspgk

SEQ ID NO: 78

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.14.4-CG4

mefglawvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI
RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
EDTAVYYCARGLTGDIYWGQGTLLTVSSAstkgsavfplapcarstsestaalgclvkdyfpe
pvtvawnsgaltsgvhtfpavilqasglyalsavvtvpsaalgtktytcnvdhkpantkvdktveskygppcpcpa
peflggsavflfppkpkdltmiartpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktipreeqfnstfrrvsvl
tvihqdwlingkeykckvankglpasiectiakakgpprepqvvtippaqcemtknqvaitclvkgfypsdiave
weanqgpennykttppvidsdgsfflyarltvdkarwqegnvfacvmhealhnhytqkalslspgk

SEQ ID NO: 82

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.14.4-Ser

mefglawvflvaiikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI
RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
EDTAVYYCARGLTGDIYWGQGTLLTVSSAstkgsavfplapcarstsestaalgclvkdyfpe
pvtvawnsgaltsgvhtfpavilqasglyalsavvtvpsaalgtktytcnvdhkpantkvdktveskygppcpcpa
peflggsavflfppkpkdltmiartpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktipreeqfnstfrrvsvl
tvihqdwlingkeykckvankglpasiectiakakgpprepqvvtippaqcemtknqvaitclvkgfypsdiave
weanqgpennykttppvidsdgsfflyarltvdkarwqegnvfacvmhealhnhytqkalslspgk

255
255

SEQ ID NO. 101

Secuencia nucleotídica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.14.4G1

atgaatttgccctgaactgggtttctcttctctatataaaaggtctccaggtCAGGTGCAGCTGGTG
GAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCACTGACTACTATATGAGCTGGATCC
GCCAGGCTCCAGGGAAGGGA CTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTA
GTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCCAT
CTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCT
GAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCCTAACTGG
GGA CTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTtccaccaag
ggcccatcgggtcttccccctggcaacctctccaagagcacctctgggggcacagggccctgggctgctggtcaa
ggactcttccccgaaccgggtgacgtgtctgtggaactcaggcgccctgaccagggcggtgcacaccttccccggtg
tctacaggtctcaggactctcttctcagcagcgtgtgacgtgtgcccctcagcagcttgggcacccagacctacat
ctgcaacgtgaatcacagcccaagcaacccaagggtggcaagaaagttagcccaatctgtgacaaaactcac
catgcccaccgtgccagcacctgaactctggggggaocgicagtcttcttcttcccccaaaacccaaggacacc
ctcatgctctccggaccctgaggtcacatgctgtgtgtggaagtgaaccaggaagacctgaggtcaagttcaa
ctggtacgtggagggcggtggaggtgcataatgccaaagcaagccggggaggagcagtacaacagcacgtaccg
tgtgtcagcgtctcaccgtctcaccaggactggtgaatggcaagggtacaaagtcaagggtctccnacaag
ccctccagcccccatcgagaaaacatctccaagccaaaggcgagcccccagaaaccaaggtgtacacctgccc
ccatccccggatgagctgaccaagaaccagggtcagctgacctgctgtcaaggcttctatccagcgacatcg
ccgtggagtgaggagcaatgggcagccgggagaacaaactacaagaccacgcctcccggtgtgactccgacggct
ccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagcagcgtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgc
atgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaatag

SEQ ID NO 102

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.14.4G1

mefelawvflvniikevqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYSWI
RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
EDTAVYYCARGLTGDIYWGQGTLVTVSSAatkgnsvflapaskataggtaalglvkdyfp
epvtvwnsgaltsgvhtfpavlgaglyslsavvtvpaalgtntyticnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcpp
cpapellggpsvflfppkpkdtlmiartpevtcvvvdvahedpevkfnwyvdgvevhmaktkpreeqynstyrv
vsvltvlhqdwlngkeykckvankalpapiektiskakgqprepqvytipardeltknqvaltlvkgfypsdi
veweanqpennyktpvldsdgaffiyakltvdksrwqqgnvfscsvmhcalmhhytqkslslspgk

253
256

SEQ ID NO: 29

Secuencia nucleotídica de la cadena pesada [cadena gamma] de 8.10.3 y 8.10.3F
atggaattgggaactgtctctgggttttcttcttctctattttagaagctatccagtgtGAGGTGCAGCTGGTG
GAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGTTTTAGTATGACCTGGGTCC
GCCAGGCTCCAGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTA
GAAGTAGTACCATACTCTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCA
TCTCCAGAGACAATGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCC
TGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATCCTCTTCT
AGCGGGAGCTACCTTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC
CGTCTCCTCAGCCctcaccaaggggccatcgggttctccccctggggccctgtctcaggagcaccctccgag
agcacagcggccctgggtctgctgtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtgtggaactcaggcgtctt
gaccaagggcgtgacacacttccagctgtcttaccagttctcaggactctactccctcagcagcgtgtgtgaccgtgcc
ctccagcaacttggcaccagacctacactgcaacgtatgacacagccagcaacaccaagggtggacaagaca
gttggcgcgaatgtgtgtgagtgccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagttcttcttcttcccc
caaaacccaaggacacctcatgattctccggaccctgagggtacgtgctgtgtgtgtgacgtgagccagga
ccccgagggtccagttcaactgtgacgtggcggcgtggagggtgcataatgccaaagacaagccacgggaggagca
gttcaacagcacgttccgtgtgtgacgcgtctcaccgtgtgtgaccaggactggctgaacggcaaggagtaacgtg
caaggtctccaaacaggcctccccagccccatcgagaaaaaccatctccaaaccaaagggtgagccccgagaacc
acaggtgtacacccctgccccatccccggaggagatgaccaagaaccagggtcagcctgacctgctgticaaaggc
tttccccagcgacatcgccgtggagtgaggagacaatggcagccggagaacaactacaagaccacacctcca
tgtgtgactccgacggctcttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtc
tttcatgtctcgtgatgatgaggctctgcacacactacacgcagaagaacctctccctgtctccggtaaa

SEQ ID NO: 30

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 8.10.3 y 8.10.3F
malglcwvflvailegvoqEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSTFSMTWV
RQAPGKGLWVSVSYISSRSSTISYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRD
EDTAVYYCARDPLLAGATFFDYWGQGLVTVSSAstkgpsvfpapcraatastaalg
clvkdyfpepvtvswnsaltagvhfpavllqasglyslasvvtvpsanfgtqytycnvdhkpantkvdktverkcc
vecppcpappvagnsvflfpkpkdilmiaitpevtcvvdvshedpevqfnwyvvdgvevhnaktkpreeqfn
stfrvsvltvvhqdwlngkeykckvankglpapietkisktkgprepqvytlppareemtknqvsltlvkgfy
psdiaveweanqpennykttppmldadgafllyakltvdkarwqggnvfscvmheallnhytqlalaspk

Secuencia proteica de la cadena liviana [cadena kappa] de 8.10.3 y 8.10.3-Ser
 metpaqllfllllwipndrgeFVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ
 KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFVVYYCQQ
 YGSSPLTFGGGTKEIKRtvaasvfi fppsdeqlksgtasvveinnfypreakvqwkvdnalqsg
 nsgcavteqdsakdatsylsstllskadyekhkvyacevthqglsspvtkafmrgec

257
258

SEQ ID NO: 58

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 8.10.3C-Ser

melglcwvflvailleqvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFSMTWV
RQAPGKGLEWVSYISSRSSTISYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRD
EDTAVYYCARDPLLAGATTFDYWGQGTLVTVSSAstkgpsvflapcarstsestaalg
clvkdyfpepvtvswngaltagvhtfpavlgasglyalsvvtvpsaslgitctytcnvdhkpantkvdkrveskyg
ppcppepapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtevtcvvvdvagedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqf
nstyrvvavltvlhqdwlngkeykckvankgipssiectiakakgqprepqvytlppsqeemtknqvaitclvkgyf
ypdiaveweanqpennykitppvldadgafllyarltvdkarwqegnvfacsvmhcalhnhytqkalslspgk

SEQ ID NO: 60

Secuencia proteica de la cadena liviana [cadena kappa] de 8.10.3-CG2, 8.10.3-CG4 y 8.10.3C-Ser

metnaqliflllwlpdttgEIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ
KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPDDFAVYYCQQ
YGSSTLTFGGGTKVBIKRTvnapavfifppadeqlksgtaavvcllanfypreakvqwkvdnalsqg
naqevateqdakdatsylastitlakadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

SEQ ID NO: 62

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 8.10.3-CG2

melglcwvflvailleqvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFSMTWV
RQAPGKGLEWVSYISSRSSTISYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRD
EDTAVYYCARDPLLAGATTFDYWGQGTLVTVSSAstkgpsvflapcarstsestaalg
clvkdyfpepvtvswngaltagvhtfpavlgasglyalsvvtvpsanfgitctytcnvdhkpantkvdktverkcc
vecppcpappvaggpsvflfppkpkdtlmisrtevtcvvvdvahedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfn
stfrvvavltvlhqdwlngkeykckvsnkgipapiectiakakgqprepqvytlppareemtknqvaitclvkgyf
padiaveweanqpennykitppmldadgafllyarltvdkarwqegnvfacsvmhcalhnhytqkalslspgk

SEQ ID NO: 90

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 8.10.3-Ser

melglcwvflvailleqvqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFSMTWV
RQAPGKGLEWVSYISSRSSTISYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRD
EDTAVYYCARDPLLAGATTFDYWGQGTLVTVSSAstkgpsvflapcarstsestaalg
clvkdyfpepvtvswngaltagvhtfpavlgasglyalsvvtvpsaslgitctytcnvdhkpantkvdkrveskyg
ppcppepapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtevtcvvvdvagedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqf
nstyrvvavltvlhqdwlngkeykckvankgipssiectiakakgqprepqvytlppsqeemtknqvaitclvkgyf
ypdiaveweanqpennykitppvldadgafllyarltvdkarwqegnvfacsvmhcalhnhytqkalslspgk

melgclwvfvlailegvgqcEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMTWV
RQAPGKGLWVSYISSRSSTISYADSVYKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRD
BDTAVYYCARDPLLAGATFFDYWGQGTLLTVSSAstkgpsvfplapcartscestaalg
clvkdyfpepvtvswnsгалtagvhtfpavlgssglyalaavvtvpssalgtkytctvdhkpanikvdkrveskyg
ppcpscpapeflggpsvflfppkpkdtliartpevtcvvvdvsqgedpevqfwvyvdgvevhnaktkprecaqf
natyrvvasvltvlhqdwlngkeyekcvankgipssiektiskakgqprepqvytppsqeemtknqvaltclvkqf
ypsdiafewesngcpennykttppvldsdgsfflysriltvdkarwqegnvfscavmhealbhnhytokalslspek

[illegible]

melgclwvrlvailleqncEVQLVESHGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMTWV
RQAPGKGLEWVSYISSRSSTISYADSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRD
EDTAVYYCARDPLLAGATFFDYWGQGTLVTVSSAarkgpsvfplapsakstsgtaal
gclvkdyfpcpvtvawnsagaltgvtfpavlgasgylsaaavtpaasltgtqyticnvbhpmtkcvdkvepk
scdkthtppcpapellggpsvfifppkpkdtlmisrtpetcvvvdvshdedpevkfnwyvdgvevhnaktkpr
eeqynstyrvvslvtlthqdwlgckeyckvkankalpapiektiakakggpprepqvytippardeltknqvsltlcv
kgfypsdiavewesnggpnnyktppvlidagfflyakltvdkerwqggvfcsvmhcalhnhytqksals
pgk

SEQ ID NO: 33

Secuencia nucleotídica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.7.2IF

algaatttggaactgaactggttttcttctgtctatataaagatgtccagttc:AGGTGCAGCTGGTG
 GAGTCTGGGGGAGGCTTGCTCAAGCCTGGAGGTCCTCGAGACTCTCC
 TGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCC
 GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTA
GTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCAT
 CTCCAGGGAACAACGCCAAGAATTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCT
 GAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGGCGTATAGGAGG
TATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCAGGTACCCGTCTCCTCAGCTtcca
 ccaaggggcccatcgtcttccccctggcgccctgctctagaagcacctccgaagacacagcggccctgggtgctctg
 gtcaaggactacttccccgaacccggtaggggtgctgttgaaactcaggcgctctgacacagcggcggtgcacaccttccc
 agctgtcttaccagtctctcaggactctacttcccacgacagcggtggtagccgtgcccctccagcaacttccggcaccagac
 ctacacctgcnaagtagatcaccaaggccagcaacccaagggtggacaagacaggttagcgcnaatggtgtgtcaggt
 gccaccgtgccacgaccacctgtggcaggaccgtcagttctcttcttcccccaaaacccaaggacacctctatga
 tctccccgaaccccttaggtctacgtgcgtgggtggtagcgttagccacgaagaccccgaaggtccaggttcaactggtag
 gtggacggcggtgaggtgcatantgcnaagacaaagccacgggaggagcaggttcaacgacagcttccgtgtgttca
 gcgtctccaccgtgtgacaccaggactggctgaacggcnaaggagtacaagtgcnaaggtcttcaacaaaggcctccca
 gcccccatcgagaaaacctctccaaaaccnaaggcagccccgaagaccacagggttagccctggcccccatccc
 gggaaggagtagcaaaagaaaggtagcctgacctgccigtcaaaaggcttctaccccagcgacalcgccgtgga
 gtggagagcaantggcgacggggagaacaaatacaagaccacaccttccatgctggaactccgacggctctcttctc
 tctacagcaagctacaccgtggcaagagcagggtggcagcaggggaacgttctctcatgctccgtgatgcatgaggct
 ctgcacaacctactacagcagaagagccttccccgtctccgggtaaa

SEQ ID NO: 34

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.7.2IF

mefelawrvflvaikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI
RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
EDTAVYYCARRIGGMDVWGQGT^TTVTSSAskkgpsvflpspcmrstaentalgclvkdyf
pepvtvswnagaltsgvhtfpavlgasgylslavvtvpsanfgtqytycnvdhkpantkvdktverkccecppe
pappvagsvflfppkpkdilmisrtpetvcvrvdvshdedpeqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfirvvs
vltvvhqdwlngkeyckckvsnkglpapiektisktkgqprepvytlppsreemtknqvslctclvkgfypadiav
ewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrqwqggnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

SEQ ID NO: 35

Secuencia nucleotídica de la cadena liviana [cadena kappa] de 9.7.2IF

atgacatgaaggtcccgcgcagctcctggggcctcctgactctgactccgaggtgccagatGACATCC
 AGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT
 CACCATCACTTGCCGGGCCAAGTCAGAGCAATTAGCGGCTTTTTAATTTGG
 TATCAGCAGAGACCAGGGAAAGCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTACA
 TCCAGTTTACAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTG
 GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGC
 AACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCAATCACTTTTCGGCCCT
 GGGACCAAAGTGGATATCAAACGAactgtggctgcacatctgtcttcacttcccgcacatga
 tgagcagttgaactctggaactgcctctgtgtgtgcctgctgaaactctatcccagagaggccaaagtacagtga
 aggtggatnagccctccaatcgggttaactccaggagagtgctacagagcaggacagcaaggacagcaactca
 gccacagcagcaccctgacgctgagcaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatca
 gggcctgagctcggcctcacaaagagcttcaacagggagagtggt

218
261

SEQ ID NO: 36

Secuencia proteica de la cadena liviana [cadena kappa] de 9.7.2IF

mdmrvpagllgllllwlrareDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI~~SGFLI~~WYQ
QRPGKAPKLLIYATSSLOSGVP~~SRFSGSGSGTDF~~TLTIS~~SLQPEDF~~ATYYCQ
QSYSTPFTFGPGTKVDIKRivnapsvfippadeqlksgtasvcllnnfypreakvqwkvdnalqs
gnaqearvteqdkdstylastitlakadyekkhkvacevthqglaspvtkafmrgec

SEQ ID NO: 45

Secuencia nucleotidica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.7.2

atggaatttggactagcctggctttcccttattgctattatataaagggtgccagttcAGGTGCAGCTGGTG
GAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCACTGACTACTACATGAGCTGGATCC
GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCATACATTAGTAGTA
GTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT
CTCCAGGGACAACGCCAAGAATTCATGTATCTGCAAATGAACAGCCT
GAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGGCGTATAGGAGG
TATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTTcca
ccaaggcccattccgtcttccctggggccctgctctagaagcaactccgagagcacagcggccctgggctgctg
gtcaaggactacttcccgaaaccggtgacgggtgtcgtggaactcaggcgtctgacacagcggcgtgcacaccttcc
agctgtcttaccagttccaggaactctacttccctcagcagcgtgtgtgacctgcccctccagcagcttgggcacgaagac
ctacacctgcaacgtagatcacagcccagcaacccaagggtgacaagagagttgagttccaaatattgttcccat
ggccatcatgcccagcacctgagtttctggggggaccatcagtttctctgttcccccaaaacccaaggacacttcat
gatctcccggaccccctgaggtaactgtcgtgtgtgtgacgtgaccaggaagaccccagggtccagttcaactgtg
acgtggtggcgtggaggtgcataatgccaaacacaaagccggggaggaagcagttcaacagcacgtaccgtgtgt
cagcgtcttccacgtctcaccaggaactggctgaacggcaaggagtacaagtgcagggtctccaacaaaggcctc
ccgtctccatcgagaaacattctccaagccaagggaagcccgagagccacagggtgacacctgccccat
cccaggaggagatgaccaagaacaggtaacgtgacctgacctgtcaaaaggcttctaccccagcgacatgccgt
ggagtgaggagagcaatgggcagccggagaaactacaagaccagccctccgtgctggactccgacggctcctt
cttctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggagggaatgtcttctatgctccgtgatgatga
ggctctgcacaaccactacacacagagagccttccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO: 46

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.7.2

msfglawvflvniikgvncQVQLVBSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS~~DIYYMS~~WI
RQAPGKGLEWVS~~YISSSGSTIYYADSVKGRFTISR~~DNAKNSLYLQMNSLRA
EDTAVYYCARRIGGMDVWGQGT~~TVTVSS~~Astkgpavflapcarstestaalgclvkdyf
pepvtvswngaltsgvhtfpavlgaglyalssvvtvpssalgktytcnvdhkpamtkvdkrveakygppcpsc
papeflggpsvflfppkpkdtlmiarpevtcvvvdvaqedpevqfivwyvdgvevhnaktkpreeqfustyrvv
svltvlhqdwlngkkykckvsnkglpasiectiakakgqprepqvylppaqcemtknqvshclvkgyfpadia
vewesngqpennykttppvldsdgafflysrivdkarwqegnvfacsvmhcalhnhytqlkalalapgk

**mdmrvnaglgllilwhrgccDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCEASOSISGFLIYWYQ
QKPGKAPKLLIVATSSLOSQVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ
QSYSTPFTFGPGTKVDIKRtaapsvfi fppsdeqlkgatavvcllnnfypreakvqwkvdnalqs
gnagcsvtgdaakdstyalssttitlakadyekhkvyacevthgslaspvtksfnrgcc**

262
263

SEQ ID NO: 66

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.7.2-CG2

mefglswvflvniikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS~~SDYYMSWI~~
RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
EDTAVYYCAIRIGGMDVWGQGTITVTVSSAstkgpsvfpapcarstsestaalgcivkdyfp
epvtvswngaltsgvhtfpavlgssglyslasvvtvpssnfgtqytcnvdhkpantkvdktverkccevecppcp
appvagsvflfppkpkdtlmiartpevtcvvvdvahedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnatfrvsv
ltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepvytlppareemtknqvaitclvkgfypadiave
weangqpennykttppmldsdgafflyskitvdkarwqggnvfscvrmhealhnhytqkalslspgk

SEQ ID NO: 70

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.7.2-CG4

mefglswvflvniikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS~~SDYYMSWI~~
RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
EDTAVYYCARRIGGMDVWGQGTITVTVSSAstkgpsvfpapcarstsestaalgcivkdyfp
epvtvswngaltsgvhtfpavlgssglyslasvvtvpssalgtkytcnvdhkpantkvdkrveakygppcp
apeflggpsvflfppkpkdtlmiartpevtcvvvdvaqedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnatyrvv
vltvvhqdwlngkeykckvsnkglpssiektiskakgqprepvytlppaqcemtknqvaitclvkgfypadiav
eweangqpennykttppvldsdgafflyarltvdkarwqegnvfscvrmhealhnhytqkalslspgk

SEQ ID NO: 86

Secuencia proteica de la cadena pesada [cadena gamma] de 9.7.2-Ser

mefglswvflvniikgvqcQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS~~SDYYMSWI~~
RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
EDTAVYYCARRIGGMDVWGQGTITVTVSSAstkgpsvfpapcarstsestaalgcivkdyf
pepvtvswngaltsgvhtfpavlgssglyslasvvtvpssalgtkytcnvdhkpantkvdkrveakygppcp
papeflggpsvflfppkpkdtlmiartpevtcvvvdvaqedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnatyrvv
svltvvhqdwlngkeykckvsnkglpssiektiskakgqprepvytlppsqcemtknqvaitclvkgfypadia
vewesngqpennykttppvldsdgafflysriltvdkarwqegnvfscvrmhealhnhytqkalslspgk

261
264**REIVINDICACIONES**

1. Un anticuerpo monoclonal humano o una porción de unión de antígeno de este que se une específicamente a M-CSF.
2. El anticuerpo monoclonal humano o la porción de unión de antígeno de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho anticuerpo o porción posee al menos una de las siguientes propiedades.
 - a) se une a isoformas secretadas por humanos de M-CSF y a isoformas unidas a membrana de M-CSF;
 - b) tiene una selectividad para M-CSF y es al menos 100 veces mayor que su selectividad para M-CSF o G-CSF;
 - c) se une a M-CSF con un K_D de 1.0×10^{-7} M o menos;
 - d) tiene una proporción inferior a la máxima ($K_{inferior}$) para M-CSF de $2.0 \times 10^{-4} s^{-1}$ o más pequeña; o
 - e) se une al M-CSF en la presencia de *c-fms* humano.
3. El anticuerpo monoclonal humano o la porción de acuerdo con la reivindicación 2, en donde dicho anticuerpo o bloques de fragmento que se unen al *c-fms* y se unen al M-CSF con un K_D de 1.0×10^{-7} M o menos.
4. Un anticuerpo monoclonal humano 8.10.3F o una porción de unión a antígeno de éste que se une específicamente a M-CSF.

262
265

5. Un anticuerpo monoclonal humano 9.14.4I o una porción de unión a antígeno de éste que se une específicamente a M-CSF.
6. Un anticuerpo monoclonal humano o quimérico, humanizado o una porción de unión a antígeno de éste que se une específicamente y que inhibe el M-CSF humano, en donde el anticuerpo o la porción de este tiene al menos una propiedad seleccionada del grupo que consiste de:
 - a) competencia cruzada para unirse a M-CSF con un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de: anticuerpo 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1;
 - b) compete para unirse con M-CSF con un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de: 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1;
 - c) unirse al mismo epítopo del M-CSF como un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.4I, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1;

~~253~~
266

- d) unirse a M-CSF con sustancialmente el mismo K_D como un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de anticuerpo 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.41, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1; y
- e) unirse a M-CSF con sustancialmente la misma proporción inferior como un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de: anticuerpo 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.41, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1.
7. Un anticuerpo monoclonal que se une específicamente a M-CSF, en donde el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste de:
- a) un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC No.: 2 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 4, sin las secuencias de señal;
- b) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 6 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 8, sin las secuencias de señal;
- c) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 10 y la

304
267

secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 12, sin las secuencias de señal;

- d) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 14 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 16, sin las secuencias de señal;
- e) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 18 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 20, sin las secuencias de señal;
- f) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 22 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 24, sin las secuencias de señal;
- g) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 26 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 28, sin las secuencias de señal;
- h) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 38 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 28, sin las secuencias de señal;
- i) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 54 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 56, sin las secuencias de señal;

- j) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 74 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 56, sin las secuencias de señal;
- k) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 78 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 56, sin las secuencias de señal;
- l) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 82 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 28, sin las secuencias de señal;
- m) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 102 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 28, sin las secuencias de señal;
- n) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 30 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 32, sin las secuencias de señal;
- o) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 30 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 44, sin las secuencias de señal;
- p) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 58 y la

266
269

secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 60, sin las secuencias de señal;

- q) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 62 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 60, sin las secuencias de señal;
- r) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 90 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 44, sin las secuencias de señal;
- s) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 94 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 80, sin las secuencias de señal;
- t) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 98 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 32, sin las secuencias de señal;
- u) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 34 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 36, sin las secuencias de señal;
- v) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 46 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 48, sin las secuencias de señal;

- w) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 50 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 52, sin las secuencias de señal;
 - x) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 66 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 52, sin las secuencias de señal;
 - y) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 70 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 52, sin las secuencias de señal;
 - z) Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácido de cadena pesada establecida en la ID de SEC. No.: 86 y la secuencia de aminoácido de cadena ligera establecida en la ID de SEC. No.: 48, sin las secuencias de señal.
8. El anticuerpo monoclonal humano o una porción de unión de antígeno de ésta de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho anticuerpo o porción que se une antígeno comprende:
- a) una cadena pesada CDR1, DR2 y CDR3 seleccionada Independientemente de la cadena pesada de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de: anticuerpo monoclonal 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.41, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4,

268
271

9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1; o

b) una cadena ligera CDR1, CDR2 y CDR3 seleccionada independientemente de la cadena ligera de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de: anticuerpo monoclonal 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.41, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1.

9. Un anticuerpo monoclonal o una porción de unión a antígeno de éste que se une específicamente a M-CSF, en donde:

a) La cadena pesada comprende la cadena pesada CDR1, CDR2 y CDR3 de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de: anticuerpo 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.41, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1;

b) La cadena ligera comprende la cadena pesada CDR1, CDR2 y CDR3 de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de: anticuerpo 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.41, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-

~~289~~
272

CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1;

- c) El anticuerpo comprende una cadena pesada de (a) y una cadena ligera de (b); o d) el anticuerpo de (c) en donde las secuencias de aminoácido CDR de cadena pesada y de cadena ligera se seleccionan del mismo anticuerpo.

10. Un anticuerpo monoclonal o una porción que se une a antígeno de ésta que se une específicamente a M-CSF, en donde el anticuerpo comprende:

- a) Una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácido desde el inicio del CDR1 hasta el final del CDR3 de la cadena pesada de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.41, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1;
- b) Una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácido desde el inicio del CDR1 hasta el final del CDR3 de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de: anticuerpo 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.41, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1;

~~270~~
273

- c) La cadena pesada de (a) y la cadena ligera de (b); o
- d) Las secuencias de aminoácido de la cadena pesada (a) y la cadena ligera de (b) se seleccionan del mismo anticuerpo

11. El anticuerpo monoclonal o la porción que se une a antígeno de acuerdo con la reivindicación 10 en donde dicho anticuerpo monoclonal o porción comprende:

- a) La secuencia de aminoácido de dominio variable (VH) de cadena pesada, sin una secuencia de señal, de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de: anticuerpo 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.41, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1;
- b) La secuencia de aminoácido de dominio variable (VL) de cadena ligera, sin una secuencia de señal, de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de: anticuerpo 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.41, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1;
- c) La secuencia de aminoácido VH de (a) y la secuencia de aminoácido VL de (b); o
- d) La secuencia de aminoácido VH de (a) y la secuencia de aminoácido VL de (b), en donde el VH y el VL son del mismo anticuerpo.

291
279

12. Un polipéptido seleccionado del grupo que consiste de:

- a) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 2, sin la secuencia de señal;
- b) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 6, sin la secuencia de señal;
- c) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 10, sin la secuencia de señal;
- d) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 14, sin la secuencia de señal;
- e) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 18, sin la secuencia de señal;
- f) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 22, sin la secuencia de señal;
- g) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 26, sin la secuencia de señal;
- h) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 30, sin la secuencia de señal;
- i) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 34, sin la secuencia de señal;
- j) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 38, sin la secuencia de señal;
- k) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 46, sin la secuencia de señal;
- l) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 50, sin la secuencia de señal;

272
275

- m) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 54, sin la secuencia de señal;
- n) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 58, sin la secuencia de señal;
- o) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 62, sin la secuencia de señal;
- p) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 66, sin la secuencia de señal;
- q) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 70, sin la secuencia de señal;
- r) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 74, sin la secuencia de señal;
- s) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 78, sin la secuencia de señal;
- t) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 82, sin la secuencia de señal;
- u) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 86, sin la secuencia de señal;
- v) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 90, sin la secuencia de señal;
- w) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 94, sin la secuencia de señal;
- x) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 98, sin la secuencia de señal; y
- y) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 102, sin la secuencia de señal.

~~273~~
276

13. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 12 que comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 30, sin la secuencia de señal.
14. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 12 que comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 28, sin la secuencia de señal.
15. Un polipéptido seleccionado del grupo que consiste de:
- a) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 4, sin la secuencia de señal;
 - b) un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 8, sin la secuencia de señal;
 - c) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 12, sin la secuencia de señal;
 - d) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 16, sin la secuencia de señal;
 - e) un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 20, sin la secuencia de señal;
 - f) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 24, sin la secuencia de señal;
 - g) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 28, sin la secuencia de señal;
 - h) un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 32, sin la secuencia de señal;

374
277

- i) un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 36, sin la secuencia de señal;
 - j) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 44, sin la secuencia de señal;
 - k) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 48, sin la secuencia de señal;
 - l) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 52, sin la secuencia de señal;
 - m) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 56, sin la secuencia de señal; y
 - n) Un polipéptido comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 60, sin la secuencia de señal.
16. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 15 comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 32, sin la secuencia de señal.
17. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 15 comprende la secuencia de aminoácido de la ID de SEC. No.: 28, sin la secuencia de señal.
18. Un anticuerpo monoclonal de una porción que se une a antígeno de este que se une específicamente a M-CSF, en donde dicho anticuerpo o porción que se une a antígeno comprende uno o más de una secuencia de aminoácido FR1, FR2, FR3 o F4 de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de: anticuerpo 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.41, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser,

225
278

8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1.

19. El anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo comprende:

- a) Una secuencia de aminoácido de cadena pesada que es al menos 90% idéntica a la secuencia de aminoácido de cadena pesada del anticuerpo monoclonal 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.41, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 o 9.14.4G1, sin la secuencia de señal;
- b) Una secuencia de aminoácido de cadena ligera que es al menos 90% idéntica a la secuencia de aminoácido de cadena ligera del anticuerpo monoclonal 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.41, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3, 9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 or 9.14.4G1, sin la secuencia de señal; o
- c) La secuencia de aminoácido de cadena pesada de (a) y la secuencia de aminoácido de cadena ligera de (b).

20. El anticuerpo monoclonal o porción que se une a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-19, en donde la lisina C-

~~278~~
279

terminal de la cadena pesada de dicho anticuerpo o la porción que se une a antígeno no está presente.

21. Una composición farmacéutica, que comprende el anticuerpo o la porción que se une a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-20 y un portador farmacéuticamente aceptable.
22. La composición farmacéutica de la reivindicación 21 en donde el anticuerpo es un anticuerpo anti-M-CSF monoclonal 9.14.41 o 8.10.3F.
23. Un método para tratar una condición seleccionada del grupo que consiste de artritis, artritis psoriática, espondilitis anquilosante, síndrome de Reiter, artritis reumatoide, gota, artritis traumática, artritis rubela y sinovitis aguda y otras condiciones artríticas, sepsis, choque séptico, choque endotóxico, sepsis gram negativa, síndrome de choque tóxico, enfermedad de Alzheimer, apoplejía, neurotrauma, asma, síndrome de distensión respiratoria del adulto, malaria cerebral, enfermedad inflamatoria pulmonar crónica, silicosis, sarcoidosis pulmonar, enfermedad reabsorción de hueso, osteoporosis, restenosis, lesión por perfusión cardíaca y renal, trombosis, glomerulonefritis, diabetes, reacción de injerto vs. huésped, rechazo de aloinjerto, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, esclerosis múltiple, degeneración de músculo, eczema, dermatitis de contacto, psoriasis, choque por quemaduras del sol y conjuntivitis en un sujeto, que incluye un humano, que comprende la etapa de administrar a dicho sujeto necesitado de esta una cantidad terapéuticamente efectiva del anticuerpo o porción que se une a antígeno de este de

237
280

acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1- 20 o la composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 21-22, en donde dicho anticuerpo o porción inhibe el M-CSF.

24. El método de la reivindicación 23 en donde la condición es artritis reumatoide.

25. El método de la reivindicación 23 o 24 en donde el anticuerpo utilizado es un anticuerpo monoclonal anti-M-CSF 8.10.3F o 9.14.4I.

26. Un método para tratar un tumor sólido tal como un sarcoma, un carcinoma, o un linfoma en un sujeto, que incluye un humano, que comprende la etapa de administrar a dicho sujeto el anticuerpo o porción que se une a antígeno de esta de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-20 o la composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 21-22, en donde dicho anticuerpo o porción que se une a antígeno inhibe el M-CSF que se une al *c-fms*.

27. Una línea celular aislada que produce el anticuerpo o porción que se une a antígeno de esta de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-20 o la cadena pesada o la cadena ligera de dicho anticuerpo o dichas porciones que se unen a antígeno de esta.

28. La línea celular de acuerdo con la reivindicación 27 que produce un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de: anticuerpo 252, 88, 100, 3.8.3, 2.7.3, 1.120.1, 9.14.41, 8.10.3F, 9.7.2IF, 9.14.4, 8.10.3,

~~228~~
281

9.7.2, 9.7.2C-Ser, 9.14.4C-Ser, 8.10.3C-Ser, 8.10.3-CG2, 9.7.2-CG2, 9.7.2-CG4, 9.14.4-CG2, 9.14.4-CG4, 9.14.4-Ser, 9.7.2-Ser, 8.10.3-Ser, 8.10.3-CG4, 8.10.3FG1 y 9.14.4G1 y un anticuerpo que tiene la misma secuencia de aminoácido como aquellos anticuerpos anteriores.

29. La molécula de ácido nucleico aislada que comprende una secuencia de nucleótido que codifica la cadena pesada o la porción que se une a antígeno de esta o la cadena ligera o una porción que se une a antígeno de esta de un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-20.
30. Un vector que comprende una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 29, en donde el vector opcionalmente comprende una secuencia de control de expresión operablemente ligada a dicha molécula de ácido nucleico.
31. Una célula huésped que comprende un vector de acuerdo con la reivindicación 30 o la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 29.
32. La célula huésped de acuerdo con la reivindicación 31 que comprende una molécula de ácido nucleico que codifica la cadena pesada y una molécula de ácido nucleico que codifica la cadena ligera de un anticuerpo a una porción que se une a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1- 20.

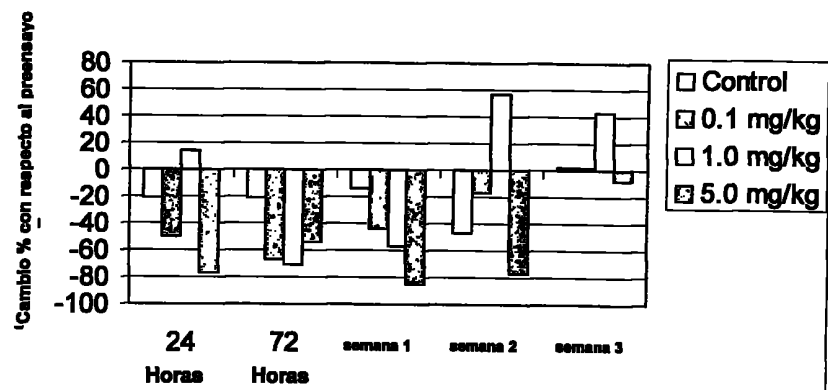
~~278~~
282

33. Un método para elaborar un anticuerpo anti-M-CSF o una porción que se une a antígeno de este, que comprende cultivar la célula huésped de acuerdo con la reivindicación 32 o la línea celular de acuerdo con la reivindicación 28 bajo condiciones adecuadas y recuperar dicho anticuerpo o porciones que se unen a antígeno.

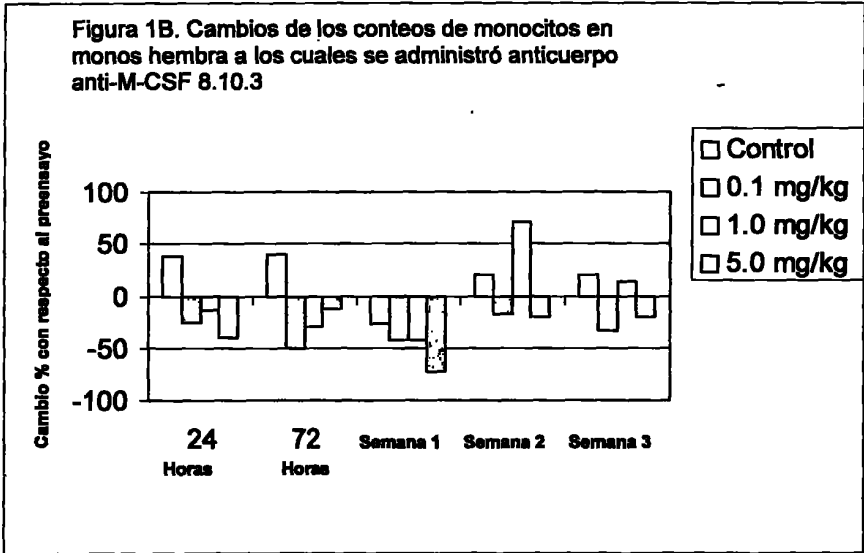
34. Un método para elaborar un anticuerpo monoclonal humano que se une específicamente a M-CSF, que comprende las etapas de:

- a) inmunizar un animal transgénico no humano que es capaz de producir anticuerpos humanos con M-CSF, una porción inmunogénica de M-CSF o una célula de tejido que expresa M-CSF;**
- b) permitir que dicho animal transgénico monte una respuesta inmune a M-CSF; y**
- c) aislar los linfocitos B de dicho animal transgénico**

Figura 1A. Cambios de los conteos de monocitos en monos macho a los cuales se administró anticuerpo anti-M-CSF 8.10.3



283



182

Figura 2A

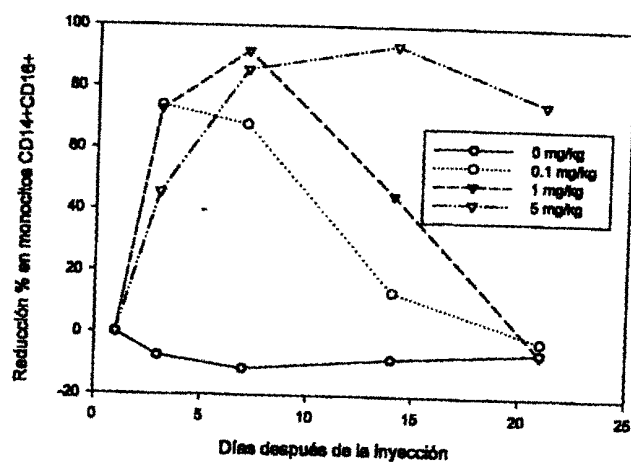
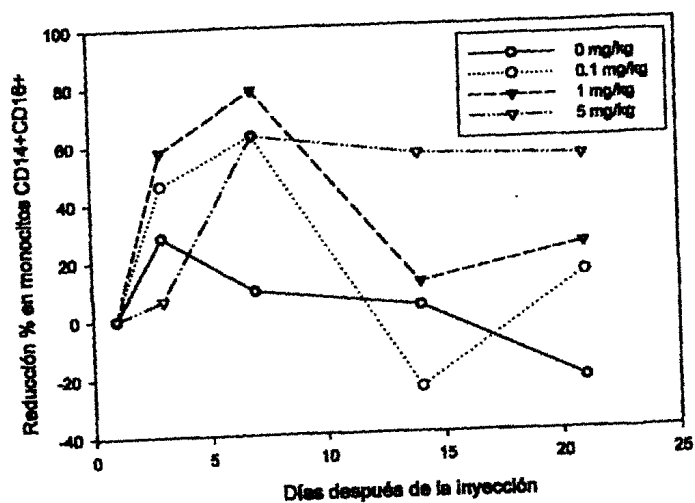
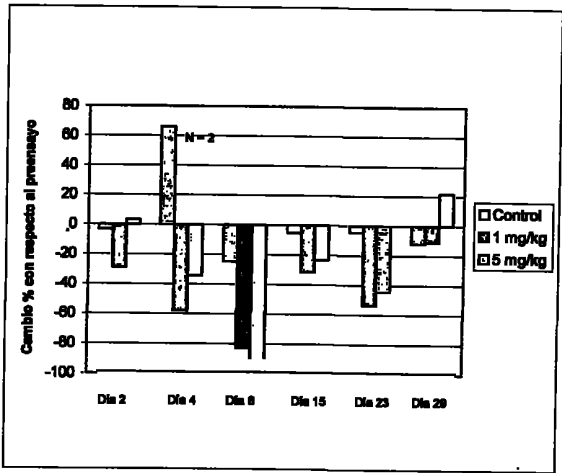


Figura 2B



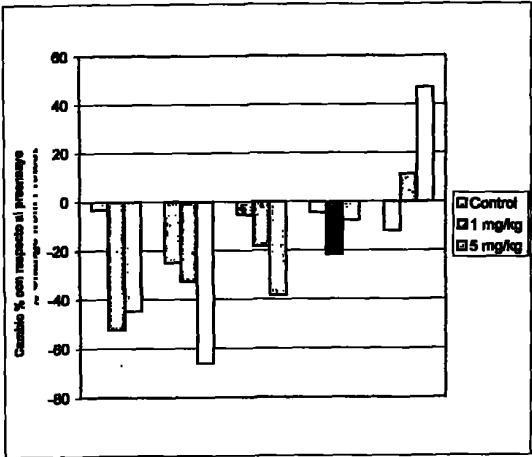
283

Figura 3A



287

Figura 3B



287

Figura 4

Figura 4A

Linea germinal V=012, J=JK3

252

German DIQMGQSPSSLSASVGRVTITC RASQSISSYLW WYQKPGKAPKLLIY AASSLQ GVPRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVTC QQSYSTFFT
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

252 ----- (residuos 21-127 de SEQ ID NO: 4)

German FGPGTEVDIK (SEQ ID NO: 103)
J

Con formato

Con formato

Figura 4B

Linea germinal V=012, J=JK3

85

German DIQMGQSPSSLSASVGRVTITC RASQSISSYLW WYQKPGKAPKLLIY AASSLQ GVPRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVTC QQSYSTFFT
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

85 ----- (residuos 21-127 de SEQ ID NO: 5)

German FGPGTEVDIK (SEQ ID NO: 103)
J

Con formato

Con formato

Figura 4C

Linea germinal V=L2, J=JK3

100

German EIVMTQSPATLSVSPQERATLSC RASQVSSSLA WYQKPGKAPKLLIY GASTRAT SIPTAFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVTC QQYHSSTFFT
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

100 ----- (residuos 21-127 de SEQ ID NO: 12)

German FGPGTEVDIK (SEQ ID NO: 107)
J

Figura 4D

Linea germinal V=L5, J=JK3

3.8.3 -----
| (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 16)
German DIQHTGSPSAVSAAVGGRVTTC KASQGISSELA WYQKPKAPKELLY AASSLQS GVFSNFGSGSGDTFTLTISSLOPEDVATTC QQAHSFTFY FGPGHVDIIR
(SEQ ID NO: 109) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

Figura 4E
Linea germinal V=LS, J=JH4
2.7.3 -----
| (residuos 23-130 de SEQ ID NO: 20)
German DIQHTGSPSAVSAAVGGRVTTC KASQGISSELA WYQKPKAPKELLY AASSLQS GVFSNFGSGSGDTFTLTISSLOPEDVATTC QQAHSFTFY FGPGHVDIIR
(SEQ ID NO: 117) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

Figura 4F
Linea germinal V=B3, J=JH1
1.120.1 -----
German DIQHTGSPSAVSAAVGGRVTTC KASQGISSELA WYQKPKAPKELLY AASSLQS GVFSNFGSGSGDTFTLTISSLOPEDVATTC QQAHSFTFY FGPGHVDIIR
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
| 1.120.1 ----- (residuos 21-134 de SEQ ID NO: 24)
German FGQGTKEVETIR (SEQ ID NO: 112)
J

Figura 4G
Linea germinal V=3-11, D=D7-27, J=JH6
252 -----
German QVQLVSGGGLVTPGASLRSCAAS SPFTSDYTH WYQAPKQGLWVS YISSSGSTIYADSVK RFTYSNDAKNAALYQWELSAEDAVYTCAR ALGGMDV
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
| 252 ----- (residuos 20-136 de SEQ ID NO: 2)

|

882

German EGQQTIVTVSSA (SEQ ID NO: 105)
FR4

Figura 4H
Línea germinal V-3-7, D-6-13, J-JH4

88 -----F-----EAT
German EVQLVESGGGLVQPGGSLALSCAAS GIFFSDYMS WVQAAPGKLEWVA WIEQDGSSTIVTVSSVS RPTISRDWAKNSLYLQMSLRASDTAVITCAR GIATAGYFDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

| 88 ----- (residuos 20-138 de SEQ ID NO: 6)

German EGQQTIVTVSSA (SEQ ID NO: 105)
FR4

Figura 4I
Línea germinal V-3-23, D-D1-26, J-JH4

100 -----E-----F-----F-V EG-----E-GE
German EVQLVESGGGLVQPGGSLALSCAAS GIFFSDYMS WVQAAPGKLEWVA AISSGGSTIVTVSSVS RPTISRDWAKNSLYLQMSLRASDTAVITCAR GIATAGYFDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

| 100 ----- (residuos 20-141 de SEQ ID NO: 10)

German EGQQTIVTVSSA (SEQ ID NO: 104)
FR4

Figura 4J
Línea germinal V-3-11, D-D7-27, J-JH4

3.6.3 -----F-----E-----G-----
German EVQLVESGGGLVQPGGSLALSCAAS GIFFSDYMS WVQAAPGKLEWVA YISSGGSTIVTVSSVS RPTISRDWAKNSLYLQMSLRASDTAVITCAR GIATAGY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

| 3.6.3 ----- (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 14)

German EGQQTIVTVSSA (SEQ ID NO: 108)

Handwritten signature or mark.

FR4

Figura 4K
Línea germinal V=3-33, D=D1-26, J=JH4

2.7.3
German QVQLVSGGGVTCGRSLIGSCAAS QFTFSYGM SVRAQNGSLRWVA VIVYDGHKTYADSVKQ RPTISGHSKPTLYIQMSRLARDTAVTYCAE GVH#TFDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

| 2.7.3 (residuos 20-137 de SEQ ID NO: 18)

German WQGGTLVTYSSA (SEQ ID NO: 110)
FR4

Figura 4L
Línea germinal V=1-18, D=D4-23, J=JH4

1.120.1
German QVQLVSGAEVKKPCASVKVSCAAS QYTFSSYGLS SVRAQNGSLRWVA WISAVGKNTSYAQELQ RYTMDITDTSTATYKELASRLASDOTAVTYCAE GVHGGHYTQY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

| 1.120.1 (residuos 20-139 de SEQ ID NO: 22)

German WQGGTLVTYSSA (SEQ ID NO: 111)
FR4

Figura 4M
Línea germinal V=A27, J=JH4

8.10.3
German KIVLTQSPGTLALSPGERATLSC NARQSVSSSYLA WYQKPGQAPFLLTY GASSRAT GIFDRTSGGGGDTFTYIAKLSFEDFAYTTC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3

| 8.10.3 (residuos 21-129 de SEQ ID NO: 44)

German QYGSSEPT FGGGTYVEIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

28

Figura 48
Línea germinal V-VH3-48, D-D1-26, J-JH4b
9.10.3
-----F--T-----R--S-----DPLA-AVF-----
Germen EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAAS GFTFSSTYHM WVQAAPGKLEWVS YISSBSSTIYYADSVKQ RFTIANDWAKNSLYIQMSLADEDTAVTTCAR ###IVG####FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
| 9.10.3 ----- (residuos 20-141 de SEQ ID NO: 30)
Germen WQQQTIVTVSSA (SEQ ID NO: 113)
J

Figura 40
Línea germinal V-012, J-JK3
9.14.4
-----P--I--L-----H-----
Germen DYQNTQSPSSLSASVEDRVITC RASQSTISYLE WYQKPGKAPKLLIY AASLQS GVPSAPSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATTIC QGSYSTPT FGPCTAVDINR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

Figura 42
Línea germinal V-VH3-11, D-D7-27, J-JH4b
9.14.4
-----S-----
Germen QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAAS GFTFSSTYHM WVQAAPGKLEWVS YISSBSSTIYYADSVKQ RFTIANDWAKNSLYIQMSLADEDTAVTTCAR ###IVG####FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
| 9.14.4 ----- (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 38)
Germen WQQQTIVTVSSA (SEQ ID NO: 116)
J

Figura 40
Línea germinal V-012, J-JK3
9.7.2
-----GF-I--R-----T--L--S-----FR1-----
CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J
(residuos 23-130 de SEQ ID NO: 48)
Eliminado: (SEQ ID NO: 48)

293

German DICHTQSPSSLSASVGRVTITC RASQSIISTLM WTOQKNGKAPKILLY AASLQAS GVPSRFSGSGSGTOFTLTISSLQPEDFATTYC QOSYSTPTT FGPGTEVDIIR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

Figura 4R
Línea germinal V-WR3-11, D-06-13, J-JR6b
9.7.2

German QVQLVSGGGLVFPQGSLSLSCAAS QTFPDITYS WIRQAPGSGLEWVS YISSSGSTIYYADSVK RFTISRDAKNSLYLQMSLSLAEDTAVYYCA RIIGHDV
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.7.2 (residuos 20-136 de SEQ ID NO: 46)

German WQQQTIVYVSEA (SEQ ID NO: 115)
J

Figura 4S
Línea germinal V-012, J-JR3
9.14.4I
(residuos 23-139 de SEQ ID NO: 28)

German DICHTQSPSSLSASVGRVTITC RASQSIISTLM WTOQKNGKAPKILLY AASLQAS GVPSRFSGSGSGTOFTLTISSLQPEDFATTYC QOSYSTPTT FGPGTEVDIIR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

Figura 4T
Línea germinal V-WR3-11, D-07-27, J-JR4b
9.14.4I

German QVQLVSGGGLVFPQGSLSLSCAAS QTFPDITYS WIRQAPGSGLEWVS YISSSGSTIYYADSVK RFTISRDAKNSLYLQMSLSLAEDTAVYYCA RIIGHDV
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.14.4I (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 26)

German WQQQTIVYVSEA (SEQ ID NO: 116)
J

Figura 4U
Línea germinal V-A27, J-JR4

4R

8.10.3F -----
German RIVLTQSPGTLSPGERATLSC RASQWTSSTYLA FTQKNGQAPKLLIY CASSRAY GIPTDFSGSGSGTDFTLTIAKLEPEDFAVYTC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3
8.10.3F ----- (residues 21-129 de SEQ ID NO: 32)
German QQYGSSTFY FGGQTVKELR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

Figura 4V
Linea germinal V-VH3-48, D-D1-26, J-JH4b
8.10.3F -----
German EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GTTFSTSTYS EVQAPGKGLRVS YISSSSSTIYYADSVK RFTISRWAKRLYLQMSLAEDTAVYTCM ###IVG###FDT
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
8.10.3F ----- (residues 20-141 de SEQ ID NO: 30)
German WGQQLVTVSRA (SEQ ID NO: 113)
J

Figura 4W
Linea germinal V-VH3-11, D-D6-13, J-JH6b
9.7.21Y -----
German DYQVTSPTSSLSASVEDRYTTC RASQWTSSTYLA FTQKNGQAPKLLIY CASSRAY GIPTDFSGSGSGTDFTLTIAKLEPEDFAVYTC QQYGSSTFY FGGQTVKELR
(residues 23-130 de SEQ ID NO: 36) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J
Eliminado (SEQ ID NO: 36)

Figura 4X
Linea germinal V-VH3-11, D-D6-13, J-JH6b
9.7.21Y -----
German EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GTTFSTSTYS EVQAPGKGLRVS YISSSSSTIYYADSVK RFTISRWAKRLYLQMSLAEDTAVYTCM ###IVG###FDT
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

288

9.7.21F ----- (residuos 20-136 de SEQ ID NO: 34)
German WGQGVTVIVSSA (SEQ ID NO: 115)
J

Figura 4Y
Linea germinal V-012, J-JH3
9.7.2C-Ser -----

FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J
(residuos 23-130 de SEQ ID NO: 32)
German DIQMTQSPSSLAASVGVGVITTC RASQISISYLE WYQKPKCHAPKLLIY AASLQIS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATTC QDSYSTPPT FGPGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

Eliminados (SEQ ID NO: 32)

Figura 4X
Linea germinal V-WH3-11, D-D6-13, J-JH6b
9.7.2C-Ser -----

FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 R-G
German QVQLVSGGGLVPGGSLRLSCAAS GFYTSDTYS WIRQDQGRGLEWVS YISSGQSIYIADSVK RFTYSDRWAEHSLYQWELAAEDTAVTYCA SIYGHV
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.7.2C-Ser ----- (residuos 20-136 de SEQ ID NO: 50)
German WGQGVTVIVSSA (SEQ ID NO: 115)
J

Figura 4AA
Linea germinal V-012, J-JH3
9.14.4C-Ser -----

(residuos 23-130 de SEQ ID NO: 56)
German DIQMTQSPSSLAASVGVGVITTC RASQISISYLE WYQKPKCHAPKLLIY AASLQIS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATTC QDSYSTPPT FGPGTKVDIKR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

Figura 4BB
Linea germinal V-WH3-11, D-D7-27, J-JH4b
9.14.4C-Ser -----

23

German QVQLVDSGGGLVWPGQGLRLSCAAS GFYFSYDTHS WISQAPGKHLGKWS YISSSGSTIYADSVK RFTISRDNAKNSLYIQGHSLSAEQTAIVYTCAR SLTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.14.4C-Ser ----- (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 54)

German WCQQTLYTVSSA (SEQ ID NO: 116)
J

Figura 4CC
Línea germinal V-A27, J-JK4

8.10.3C-Ser -----

German RIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQQRPGQAPRLIY QASSRAT GIPTDFSGSGSGTDFTLTISRLKPEDFAVYTC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3

German QVYSSSPLT FGGQTVSEIR (residuos 21-129 de SEQ ID NO: 60)
CDR3 J

8.10.3 ----- (SEQ ID NO: 114)

Figura 4DD
Línea germinal V-VH3-48, D-D1-26, J-JK4b

8.10.3C-Ser -----

German QVQLVDSGGGLVWPGQGLRLSCAAS GFYFSYDTHS WISQAPGKHLGKWS YISSSGSTIYADSVK RFTISRDNAKNSLYIQGHSLSAEQTAIVYTCAR SLTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

8.10.3C-Ser ----- (residuos 20-141 de SEQ ID NO: 58)

German WCQQTLYTVSSA (SEQ ID NO: 113)
J

Figura 4EE
Línea germinal V-A27, J-JK4

8.10.3-CG2 -----

German RIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSSYLA WYQQRPGQAPRLIY QASSRAT GIPTDFSGSGSGTDFTLTISRLKPEDFAVYTC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3

200

8.10.3-CG2 ----- (residuos 21-129 de SEQ ID NO: 60)

German QNYGSEHPLT FGGGTVEIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

Figura 4FF
Linea germinal V-VH3-48, D-D1-26, J-JH4b
8.10.3-CG2 ----- F - F - - - - - R - - - - - DSVLA-RST

German FTQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS QFTTSSTYSIM WYQAPGKGLSVVS YISRSSTIYYADSVK RFYISRDNAKSLYLQMSLRDSDTAVTYCAK SIIVGSIIFDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

8.10.3-CG3 ----- (residuos 20-141 de SEQ ID NO: 62)

German WQQGTLVTVEEA (SEQ ID NO: 113)
J

Figura 4GG
Linea germinal V-VH3, J-JH3
9.7.2-CG2 ----- EF-I - - - - - F - - - - - CDR3 J

residuos 23-130 de SEQ ID NO: 521

Eliminado (SEQ ID NO: 521)

German DIQMTQSPFSLASVGGGVITTC ASQSTISYLE WYQKPKAPKILIV ASSLQK GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDPATYIC QDSYATPPT FGPGTAVDIK
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

Figura 4HM
Linea germinal V-VH3-11, D-D6-13, J-JH6b
9.7.2-CG2 ----- R - S - - - - -

residuos 20-136 de SEQ ID NO: 66)

German FTQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS QFTTSSTYSIM WYQAPGKGLSVVS YISRSSTIYYADSVK RFYISRDNAKSLYLQMSLRDSDTAVTYCA SIIVGSIIFDY
(SEQ ID NO: 115) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.7.2-CG2 -----
German WQQGTLVTVEEA

298

3

Figura 411
Línea germinal V-012, J-JK3
9.7.2-CG4
(residuos 23-130 de SEQ ID NO: 52)

-----GF-I-----I-----
German DIQNTQSPSLAASVGVZITC NASQSISSYLE WYQVQPKAKLLIY AASLQ GVFNFSGSGSGTDFLTISSLQPEDPATTC QGSYSTSTPT FGPQKVDLIR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

Figura 412
Línea germinal V-VH3-11, D-D6-13, J-JK6b
9.7.2-CG4

-----R-G-----
German QVQLVSGGGLVPGGSLRLSCAAS GVTFPSDTYS WIRQAPGKGLRWVS YISSSGSTIYVDSVNG RFTISRDWAKNSLYTQWSLAEATAVTYCA QISGQV
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.7.2-CG4 (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 70)

German WQGSITTVVSSA (SEQ ID NO: 115)
J

Figura 413
Línea germinal V-012, J-JK3
9.14.4-CG2
(residuos 23-130 de SEQ ID NO: 56)

-----P-I---I-----
German DIQNTQSPSLAASVGVZITC NASQSISSYLE WYQVQPKAKLLIY AASLQ GVFNFSGSGSGTDFLTISSLQPEDPATTC QGSYSTSTPT FGPQKVDLIR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

Figura 414
Línea germinal V-VH3-11, D-D7-27, J-JK6b
9.14.4-CG2

-----G-----
German QVQLVSGGGLVPGGSLRLSCAAS GVTFPSDTYS WIRQAPGKGLRWVS YISSSGSTIYVDSVNG RFTISRDWAKNSLYTQWSLAEATAVTYCA QISGQV
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.14.4-CG2 (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 74)

296

German WGQGLVTVSSA (SEQ ID NO: 116)
J

Figura 4NH
Linea germinal V-012, J-JK3

9.14.4-CG4
(residuos 23-130 de SEQ ID NO: 56)

German DIQHTSPSSLSASVCDRVITC RASQISSYL WTQKPKAKKLLIY RASSLQ GVPRFSGSGGTDTFLYISSLPEDFATTC QGSYSTPTT FGPGTEVDIIR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

Figura 4NH
Linea germinal V-VH3-11, D-D7-27, J-JH4b

9.14.4-CG4
(residuos 20-135 de SEQ ID NO: 78)

German QQLVRSQGLVFPQSSILSCAAS GTTFSDYTH WTQKPKAKKLLIY YISSSGSTIYADSVK RTISRWAKNSLYLQMSLRADTAVYTCAR SLTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

German WGQGLVTVSSA (SEQ ID NO: 116)
J

Figura 4OO
Linea germinal V-012, J-JK3

9.14.4-Ser
(residuos 23-130 de SEQ ID NO: 28)

German DIQHTSPSSLSASVCDRVITC RASQISSYL WTQKPKAKKLLIY RASSLQ GVPRFSGSGGTDTFLYISSLPEDFATTC QGSYSTPTT FGPGTEVDIIR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

Figura 4PP
Linea germinal V-VH3-11, D-D7-27, J-JH4b

9.14.4-Ser
(residuos 20-135 de SEQ ID NO: 78)

German QQLVRSQGLVFPQSSILSCAAS GTTFSDYTH WTQKPKAKKLLIY YISSSGSTIYADSVK RTISRWAKNSLYLQMSLRADTAVYTCAR SLTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

462

FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
9.14.4-Ser ----- (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 82)
Gerzen WGQGLVTVSSA (SEQ ID NO: 116)
J

Figura 400
Linea germinal V=012, J=JK3

9.7.2-Ser -----
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J
(residuos 23-130 de SEQ ID NO: 48)
Gerzen DIQHTSPSSIAAVGDRVTIC BASQISSTYL WIOQKPAFGLLY ASSELQ GYSPSPGSGGOTFTLTIANLOPDEAVTTC QQSYSTPPT PEPQTVNDLIR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

Residuos (SEQ ID NO: 48)

Figura 401
Linea germinal V=VH3-11, D=D6-13, J=JH6

9.7.2-Ser -----
Gerzen QVQLVRSQGLVKGQGLKLSAAS GTTSTDTYS WIOQAPGKLEWVS VIASSSTIYYADSVRG APTISADMAKSAITLQMSLAQDTAVTTC SIQKQW
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

9.7.2-Ser ----- (residuos 20-136 de SEQ ID NO: 50)

Gerzen WGQGLVTVSSA (SEQ ID NO: 115)
J

Residuos: Figura 401
Germline V=VH3-11,
D=D6-13, J=JH6
9.7.2-Ser.

R R-
S-----
(SEQ ID NO: 86)
Gerzen..DIQHTSPSSIAAVGDRVTIC BASQISSTYL
WIOQKPAFGLLY ASSELQ
GYSPSPGSGGOTFTLTIANLOPDEAVTTC
QQSYSTPPT PEPQTVNDLIR
(SEQ ID NO: 115).
FR1...CDR1...
FR2...CDR2... FR3...
CDR3 . J
I

Figura 488
Linea germinal V=A27, J=JK4

8.10.3-Ser -----
Gerzen EIVLTQAPGTLSLSPGERATLSC BASQVSSSTYL WIOQKPAFGLLY GASSRAT GIPDPSPGSGGOTFTLTIANLOPDEAVTTC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3

8.10.3-Ser ----- (residuos 21-129 de SEQ ID NO: 44)

Gerzen QVQLVRSQGLVKGQGLKLSAAS GTTSTDTYS WIOQAPGKLEWVS VIASSSTIYYADSVRG APTISADMAKSAITLQMSLAQDTAVTTC SIQKQW
CDR3 J

462

Figura 4TT
Linea germinal V-VH3-48, D-D1-26, J-JH4b
S.10.3-Ser -----F--F-----E--E-----DVLIA-ATF-----
German EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTTSSYSMM WVQAPGKGLRWVS YIASSSTITYADSVKQ RTFIARDMAKHSLYLQMESLADSDTAVYTCAR ##IVG##FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
| S.10.3-Ser ----- (residuos 20-141 de SEQ ID NO: 90)
German WQGGTLVTVERA (SEQ ID NO: 113)
J

Figura 4UU
Linea germinal V-A27, J-JH4
S.10.3-CG4 -----
German EVLVTSFGPTLRLSPGERATLSC KAGQVSSSTLA WYQKPGQAPALLIV GASSRAT QIPDRFGSGSGSTDTLTITSLAEPRDFATTC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3
| S.10.3-CG4 ----- (residuos 21-129 de SEQ ID NO: 60)
German QQGGRRLT FGGGTVKIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

Figura 4VV
Linea germinal V-VH3-48, D-D1-26, J-JH4b
S.10.3-CG4 -----F--F-----E--E-----DVLIA-ATF-----
German EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTTSSYSMM WVQAPGKGLRWVS YIASSSTITYADSVKQ RTFIARDMAKHSLYLQMESLADSDTAVYTCAR ##IVG##FDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
| S.10.3-CG4 ----- (residuos 20-141 de SEQ ID NO: 94)
German WQGGTLVTVERA (SEQ ID NO: 113)
J

279

Figura 4W
Línea germinal V=012, J=JK3
9.14.461
(residuos 23-130 de SEQ ID NO: 28)
-----P-T-L-----E-----
German DIQMTQSPFSLASVGERVTTC RASQSISSYL NYQKPGKAPKLLIY AASLQ GVTPRFGSGSGSTDTLTITISLQPEDPATTC QGSYSTFP FGPGTAVDIR
(SEQ ID NO: 103) FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 J

Figura 4X
Línea germinal V=VH3-11, D=D7-27, J=JK4b
9.14.461
-----S-----
German QVQLVSSGGLVPGGSLALSCAAS GFTFEDYTH WIRQAPGEGLEWE YISSGGTIYIADSVK APTISRDAKNSLYQMNSLRADTAVYTCAR ELTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3
9.14.461 (residuos 20-135 de SEQ ID NO: 102)
German WQQTAVTVEEA (SEQ ID NO: 116)
J

Figura 4Y
Línea germinal V=A27, J=JK4
9.10.3FG1
-----P-----
German SIIVLTQSPGGLSLAPGEMATLAC RASQSISSYL NYQKPGKAPKLLIY GASRRAT GIPDRFGSGSGSTDTLTITISLQPEDPATTC
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3
9.10.3FG1 (residuos 21-129 de SEQ ID NO: 32)
German QVGSRRAT FGGRTVEIKR (SEQ ID NO: 114)
CDR3 J

Figura 4Z
Línea germinal V=VH3-46, D=D1-26, J=JK4b
9.10.3FG1
-----P-T-----S-----DVELA-ATP-----
German EVQLVESGGGLVPGGSLALSCAAS GFTFEDYTH WIRQAPGEGLEWE YISSGGTIYIADSVK APTISRDAKNSLYQMNSLRADTAVYTCAR ELTGDY
FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3

985

| 8.10.3FG1 ----- (residue 20-141 de SEQ ID NO: 98)
German WQQGLVTVSAA (SEQ ID NO: 113)
3

168

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference ABX-PF4 PCT	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US04/29390	International filing date (day/month/year) 09 September 2004 (09.09.2004)	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 10 September 2003 (10.09.2003)
Applicant WARNER-LAMBERT COMPANY LLC.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.



It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the Report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of:



the international application in the language in which it was filed.



a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☒ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)

3. ☐ Unity of invention is lacking (See Box No. III)

4. With regard to the title,



the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,



the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the drawings,

a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____



as suggested by the applicant.



as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.



as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.

b. ☒ none of the figures is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US04/29390

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of Item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

a. type of material



a sequence listing



table(s) related to the sequence listing

b. format of material



on paper



in electronic form

c. time of filing/furnishing



contained in the international application as filed



filed together with the international application in electronic form



furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US04/29390

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : C07K 16/00; C12N 15/00 US CL : 530/387.3, 388.1, 388.15, 388.23; 800/6 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) U.S. : 530/387.3, 388.1, 388.15, 388.23; 800/6 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
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 5,491,065 (HALENBECK et al) 13 February 1996 (13.02.1996), columns 6-7.	1 — 2, 34
X — Y	JP 05-095794 A (OMOTO et al) 20 April 1993 (20.04.1993), see entire document, especially page 2, paragraph [0009] of the attached computer translation.	1-2 — 34
34	WO 91/10741 (ROWLAND et al) 25 July 1991 (25.07.1991), see entire document, especially pages 3-15 and page 2, lines 25-38)	Y
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" documents defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent 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 14 October 2005 (14.10.2005)		Date of mailing of the international search report 06 JAN 2006
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. (703) 305-3230		Authorized officer David J. Blanchard Telephone No. (571) 272-1600

308

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International appli
PCT/US04/29890

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:

WEST, Medline, Embase, Cancerlit, Biosis, Biotechno, Geneseq, issued and published patents, PIR 79, Uniprot 03.

Search terms: SEQ ID numbers, M-CSF, c-fms, human monoclonal, xenogenic antibody, non-human transgenic, inventor search.

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

(PCT Rule 43bis.1)

To:
JAMES F. JR. HALEY
C/O FISH & NEAVE
1251 AVENUE OF THE AMERICAS
NEW YORK, NY 10020Date of mailing
(day/month/year)

06 JAN 2006

Applicant's or agent's file reference

FOR FURTHER ACTION

See paragraph 2 below

ABX-PF4 PCT

International application No.

International filing date (day/month/year)

Priority date (day/month/year)

PCT/US04/29390

09 September 2004 (09.09.2004)

10 September 2003 (10.09.2003)

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC

IPC(7): C07K 16/00; C12N 15/00 and US Cl.: 530/387.3, 388.1, 388.15, 388.23; 800/6

Applicant

WARNER-LAMBERT COMPANY LLC.

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

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. (703) 305-3230

Date of completion of this opinion

14 October 2005 (14.10.2005)

Authorized officer

David J. Blanchard

Telephone No. (571) 272-1600

Form PCT/ISA/220 (Amended) (April 2005)

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No. _____

PCT/US04/29390

Box No. I Basis of this opinion

1. With regard to the language, this opinion has been established on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
- ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).

2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:

a. type of material

- ☒ a sequence listing
- ☐ table(s) related to the sequence listing

b. format of material

- ☒ on paper
- ☒ in electronic form

c. time of filing/furnishing

- ☒ contained in the international application as filed.
- ☒ filed together with the international application in electronic form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.

3. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table(s) relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

4. Additional comments:

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International appli
PCT/US04/29390

311

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application
☒ claims Nos. 21-33

because:

- ☐ the said international application, or the said claim Nos. _____ relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

- ☒ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. 21-33 are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

Claims 21-33 are improper multiple dependent claims under PCT Rule 6.4(a) because a multiple dependent claim shall not serve as a basis for any other multiple dependent claim.

- ☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☐ no international search report has been established for said claims Nos. _____

- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

- ☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13ter.1(a) or (b).

- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

- ☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.

- ☐ See Supplemental Box for further details.

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International appl.
PCT/US04/29350

304
312

Box No. V Reasoned statement under Rule 43 bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims <u>3-20</u>	YES
	Claims <u>1-2</u>	NO
Inventive step (IS)	Claims <u>3-20</u>	YES
	Claims <u>1-2, 34</u>	NO
Industrial applicability (IA)	Claims <u>1-20, 34</u>	YES
	Claims <u>NONE</u>	NO

2. Citations and explanations:

Please See Continuation Sheet

313

210

International application No. PCT/US04/25990

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

Supplemental Box
In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

V. 2. Citations and Explanations:

Claim 1 lacks novelty under PCT Article 33(2) as being anticipated by Halenbeck et al (US Patent 5,491,065, issued 2/13/1996).

Claim 1 is drawn to a human monoclonal antibody or antigen-binding fragment thereof that specifically binds to M-CSF.

Halenbeck et al teach human monoclonal antibodies (e.g., produced by human hybridomas) that specifically bind M-CSF (see columns 6-7).

Claims 1-2 lack novelty under PCT Article 33(2) as being anticipated by Omoto et al (JP 05095794 A, published 4/20/1993, computer translation attached).

Claim 2 recites wherein the human monoclonal antibody possesses at least one of the recited properties including binding human M-CSF in the presence of human c-fms.

Omoto et al teach a human M-CSF monoclonal antibody that specifically binds human M-CSF and as a property is inherent to a product, the human M-CSF monoclonal antibody taught by Omoto et al would necessarily bind human M-CSF in the presence of c-fms (the M-CSF receptor) because if human M-CSF is present the human monoclonal antibody would bind (see page 2, paragraph [0009] and claims of attached computer translation).

Claim 34 lacks an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Halenbeck et al or Omoto et al in view of Rowland et al (WO 91/10741, published 7/25/1991).

Claim 34 is drawn to a method of making a human monoclonal antibody that specifically binds to M-CSF comprising immunizing a non-transgenic animal that is capable of producing human antibodies with M-CSF, allowing the transgenic animal to mount an immune response to M-CSF and isolating B lymphocytes from said transgenic animal.

Halenbeck et al and Omoto et al teach human monoclonal antibodies that specifically bind M-CSF. Halenbeck et al or Omoto et al do not teach a method for producing human monoclonal antibodies that specifically bind human M-CSF comprising immunizing a non-human transgenic animal that is capable of producing human antibodies with human M-CSF. This deficiency is made up for in the teachings of Rowland et al.

Rowland et al teach a method for producing human monoclonal antibodies that specifically bind to a human antigen comprising immunizing a non-human transgenic animal that is capable of producing human antibodies with the human antigen, allowing the transgenic animal to mount an immune response to the human antigen and isolating B lymphocytes from said non-human transgenic animal, particularly for hybridoma production (see entire document, especially pages 3-15). Rowland et al teach that human peripheral blood lymphocytes for the production of monoclonal antibodies have not been particularly successful in fusions and usually led only to

311
314

International Search
PCT/US04/15540

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

IgM and according to Rowland it is particularly difficult to generate an human antibody response against a human protein (see page 2, lines 25-38).

One of ordinary skill in the art would have been motivated and had a reasonable expectation of success at the time the invention was made to have produced a method of making human monoclonal antibodies that specifically bind to human M-CSF comprising immunizing a non-human transgenic animal that is capable of producing human antibodies with M-CSF, allowing the non-human transgenic animal to mount an immune response to human M-CSF and isolating B lymphocytes from said non-human transgenic animal in view of Halenbeck et al or Omoto et al and Rowland et al because Halenbeck et al and Omoto et al teach human monoclonal antibodies that specifically bind M-CSF and Rowland et al teach a method for producing human monoclonal antibodies that specifically bind to a human antigen comprising immunizing a non-human transgenic animal that is capable of producing human antibodies with the human antigen, allowing the non-human transgenic animal to mount an immune response to the human antigen and isolating B lymphocytes from said non-human transgenic animal, particularly for hybridoma production. The motivation to make the above modification is made explicit by Rowland et al, who states that human antibody responses against a human protein are difficult to generate and the use of human peripheral blood lymphocytes for the production of monoclonal antibodies have not been particularly successful. Thus, it would have been prima facie obvious to one of ordinary skill in the art at the time the invention was made to have immunized a non-human transgenic animal with human M-CSF and isolated the B lymphocytes from said non-human transgenic animal for the production of human monoclonal antibodies having specificity for human M-CSF in view of Halenbeck et al or Omoto et al and Rowland et al.

Claims 3-20 meet the criteria set out in PCT Article 33(2)-(3), because the prior art does not teach or fairly suggest the monoclonal antibodies that specifically bind M-CSF and comprise the recited heavy and light chain sequences and affinities.

Claims 1-20 and 34 meet the criteria set out in PCT Article 33(4), and thus have industrial applicability because the subject matter claimed can be made or used in industry.

312
315

NOTES TO FORM PCT/ISA/220 (continued)

The letter must indicate the differences between the claims as filed and the claims as amended. It must, in particular, indicate, in connection with each claim appearing in the international application (it being understood that identical indications concerning several claims may be grouped), whether

- (i) the claim is unchanged;
- (ii) the claim is cancelled;
- (iii) the claim is new;
- (iv) the claim replaces one or more claims as filed;
- (v) the claim is the result of the division of a claim as filed.

The following examples illustrate the manner in which amendments must be explained in the accompanying letter:

- 1 [Where originally there were 48 claims and after amendment of some claims there are 51]:
"Claims 1 to 29, 31, 32, 34, 35, 37 to 48 replaced by amended claims bearing the same numbers; claims 30, 33 and 36 unchanged; new claims 49 to 51 added"
- 2 [Where originally there were 15 claims and after amendment of all claims there are 11]:
"Claims 1 to 15 replaced by amended claims 1 to 11"
- 3 [Where originally there were 14 claims and the amendments consist in cancelling some claims and in adding new claims]:
"Claims 1 to 6 and 14 unchanged; claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added." or
"Claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added; all other claims unchanged."
- 4 [Where various kinds of amendments are made]:
"Claims 1-10 unchanged; claims 11 to 13, 18 and 19 cancelled; claims 14, 15 and 16 replaced by amended claim 14; claim 17 subdivided into amended claims 15, 16 and 17; new claims 20 and 21 added."

"Statement under Article 19(1)" (Rule 46.4)

The amendments may be accompanied by a statement explaining the amendments and indicating any impact that such amendments might have on the description and the drawings (which cannot be amended under Article 19(1)).

The statement will be published with the international application and the amended claims.

It must be in the language in which the international application is to be published.

It must be brief, not exceeding 500 words if in English or if translated into English.

It should not be confused with and does not replace the letter indicating the differences between the claims as filed and as amended. It must be filed on a separate sheet and must be identified as such by a heading, preferably by using the words "Statement under Article 19(1)."

It may not contain any disparaging comments on the international search report or the relevance of citations contained in that report. Reference to citations, relevant to a given claim, contained in the international search report may be made only in connection with an amendment of that claim.

Consequence if a demand for international preliminary examination has already been filed

If, at the time of filing any amendments and any accompanying statement, under Article 19, a demand for international preliminary examination has already been submitted, the applicant must preferably, at the time of filing the amendments (and any statement) with the International Bureau, also file with the International Preliminary Examining Authority a copy of such amendments (and of any statement) and, where required, a translation of such amendments for the procedure before that Authority (see Rules 55.3(a) and 62.2, first sentence). For further information, see the Notes to the demand form (PCT/IPEA/40).

Consequence with regard to translation of the international application for entry into the national phase

The applicant's attention is drawn to the fact that, upon entry into the national phase, a translation of the claims as amended under Article 19 may have to be furnished to the designated/elected Offices, instead of, or in addition to, the translation of the claims as filed.

For further details on the requirements of each designated/elected Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II.

NOTES TO FORM PCT/IS-4/220

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under Article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information see also the *PCT Applicant's Guide*, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article," "Rule" and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions, respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only.

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When? Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How? Either by cancelling one or more entire claims, adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Administrative Instructions, Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

folio 313 Publication.



FORMATO DE DIGITALIZACION
RELACION DE ANEXOS



Royal
Technologies S.A.
Calle 100 No. 100, P.O. Box 100

Expediente No		06034496.	No de Folio
Item		No de unidades	
1	CD		
2	DVD		
3	REVISTA		
4	LIBRO		
5	PERIÓDICO		
6	DISQUETES		
7	SOBRE DE MANILA		
8	SOBRE BLANCO TAMAÑO CARTA		
9	SOBRE BLANCO TAMAÑO OFICIO	1	✓
10	OTROS:		

Observaciones:

arte final

316

317

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 900176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 25,686
FECHA : ABRIL 3 DE 2006

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-034496-00000-0000 Fe: 2006-04-07 17:45:45
Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra: 11 PATENTEYI Evt 378 FASENACIONALJ
Act 411 PRESENTACION Folios: 316

CONSIGNACION

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	49935725	03/04/2006	48,185,000.00

CONCEPTO

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	463,000.00
	TOTAL :	\$ 463,000.00

SON: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : 
RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Cdo 15252-841-001-1

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-034498-00000-0000 Fea: 2008-04-07 17:45:45
Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra: 11 PATENTEYI Eps 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios: 316

316
318

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

RÉQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACIÓN Y AGILIZACIÓN DEL
TRAMITE

PCT

PATENTE DE INVENCION	MODELO DE UTILIDAD ()	USUARIO ()	RADICADOR ()
-Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	()	A)
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()	(X)
-Descripción de la invención.	()	()	(X)
-Dibujos de ser estos pertinentes.	()	()	(X)
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()	(X)
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()	()

DISEÑO INDUSTRIAL ()

-Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se 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 ()

-Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()
-Representación gráfica del Esquema Trazado.	()	()
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

Firma Responsable:

Fecha:

318
319

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
FERRERO EMILIO

REFERENCIA	Radicación No.	06 34496
	Solicitud internacional	US2004/029390
	Fecha inicio fase nacional	10/04/2006
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	8429

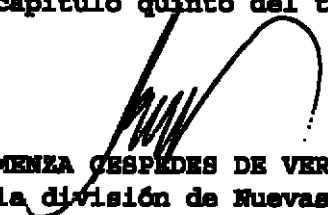
Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor a los solicitantes o a sus causantes. (Art. 26-k) Decisión 486.

2. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado por la sociedad ABGENIX, INC., con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA GONZALEZ DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 19 de Mayo de 2006 a los señores FRANCISCO

908070 