



(19)  PATENDIAMET

(11) **EE-EP 2 383 297 B9**

(51) Int. Cl.
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01)

(12) **EESTIS KEHTIVA EUROOPA PATENDI
PATENDIKIRJELDUSE TÕLGE**

(52) CPC
A61P 7/00; A61P 7/04; A61P 17/02;
A61P 19/02; A61P 25/00; A61P 25/28;
A61P 29/00; A61P 35/00; A61P 35/02;
A61P 37/00; A61P 37/02; A61P 37/06;
C07K 16/2803; C07K 2317/24; C07K 2317/41;
C07K 2317/52; C07K 2317/565; C07K 2317/72;
C07K 2317/732; C07K 2317/77; C07K 2317/92;
C07K 2317/94

(10) Registreeringu number: E007884	(73) Patendiomanik: Xencor Inc. 111 W. Lemon Avenue, Monrovia, CA 91016, US
(11) Patendikirjelduse tõlke number: EE-EP 2 383 297 B9	(72) Leiutise autorid: Bernett, Matthew J. 222 E. Olive Ave. 3, Monrovia, CA 91016, US Chu, Seung Yup 4613 Larwin Avenue, Cypress, CA 90630, US Desjarlais, John R. 1030 N. Michigan Avenue, Pasadena, CA 91104, US Karki, Sher Bahadur 2833 Providence Way, Pomona, CA 91767, US Lazar, Gregory Alan 750 Arcadia Avenue, 6, Arcadia, CA 91007, US Pong, Erik WeiKing 9415 Lemon Avenue, Temple City, CA 91780, US Richards, John O. 893 San Marcus Lane, Duarte, CA 91010, US Zhukovsky, Eugene Alexander 1124 N. Kings Road, Apt. 203, West Hollywood, CA 90069, US
(30) Prioriteediandmed: 14.08.2006 US 822362 P	
(96) Euroopa patenditaotluse esitamise kuupäev: 14.08.2007	
(96) Euroopa patendi-taotluse number: 11173336.6	
(97) Euroopa patendi väljaand-misest teatamise kuupäev: 15.06.2022	
(97) Euroopa patendi number: EP 2 383 297 B9	
Patendikirjelduse tõlke esitamise kuupäev: 29.06.2022	
Patendikirjelduse tõlke avalikustamise kuupäev: 15.07.2022	
(54) CD19-le suunatud optimeeritud antikehad	(74) Patendivolinik: Anneli Kapp Patendibüroo KÄOSAAR OÜ Tähe 94, 50107 Tartu, EE

CD19-le suunatud optimeeritud antikehad

LEIUTISE TAUST

B-rakud

B-rakud on lümfotsüüdid, mis omavad olulist rolli humoraalses immuunvastuses.

- 5 B-rakke toodetakse enamiku imetajate luuüdis ja need moodustavad 5-15% vereringes leiduvatest lümfoididest. B-rakkude peamiseks funktsiooniks on antikehade tootmine erinevate antigeenide vastu ja seega on need rakud adaptiivse immuunsüsteemi oluliseks komponendiks.

- 10 Inimkeha toodab iga päev miljoneid erinevat tüüpi B-rakke, mis veres ja lümfides immuunjälgmise funktsiooni täidavad. B-rakud, mida vahel ka B-lümfotsüütideks kutsutakse, toodavad antikehasid ainult täielikult aktiveerituna. Iga B-raku pinnal asub unikaalne retseptorvalk (ehk B-raku retseptor (BCR)), mis ühe konkreetse antigeeniga seondub. BCR-i näol on tegemist membraaniga seotud immunoglobuliiniga ja see molekul võimaldab B-rakkude eristamist muudest
- 15 lümfotsüütide tüüpidest ning samuti on tegemist peamise B-rakkude aktiveerimises osaleva retseptoriga. Kui B-rakk on kohanud oma spetsiifilist antigeeni ja abistajast T-rakust täiendava signaali vastu võtnud, võib see diferentseeruda täiendavalt erinevateks allpool loetletud B-rakkude tüüpideks. B-rakk võib muutuda üheks selliseks rakutüübiks otse või läbida vahepealse
- 20 diferentseerumisetapi ehk germinaalse tsentri reaktsiooni, kus B-rakk hüpermuteerib oma immunoglobuliini geeni muutuva piirkonna - võimalik on ka klassi vahetumise läbimine.

- B-rakkude areng toimub läbi mitme etapi, kus iga etapp kujutab antikeha lookuse genoomi sisu muutust. B-raku arengu etappideks on eellastest B-rakud, varased
- 25 pro-B-rakud, hilised pro-B-rakud, suured pre-B-rakud, väikesed pre-B-rakud, ebaküpsed B-rakud ja küpsed B-rakud.

Küpsed B-rakud saab jagada nelja peamisesse klassi:

B-1 rakud avaldavad CD5, mis on peamiselt T-rakkudes leiduvaks markeriks. B-1 rakud avaldavad samuti IgM suuremates kogustes kui IgG. Need rakud eritavad

loomult madala afiinsusega seerumis leiduvaid polüreaktiivseid antikehasid, mille spetsiifilisused on suunatud ise-antigeenidele ja tavapärastele bakteriaalsetele polüsahhariididele. B-1 rakke leidub vähestes kogustes ka lümfisõlmedes ja põrnas, kuid nende peamisteks leiukohtadeks on peritoneaalsed ja pleuraalsed õõnsused.

B-2 rakud on valdavas osas kirjanduses kirjeldatud B-rakkudeks. Need rakud asuvad luuüdis, põrnas ja lümfisõlmedes. Nende rakkude eluiga on lühike ja pärast antigeenidega aktiveerimist võivad need diferentseeruda IgG tootvateks mälu B-rakkudeks. Nende antikehade reageeringute käigus võib IgG läbida olulise afiinsuse küpsemise.

Plasma B rakud (ehk plasma rakud) on suured B rakud, mis puutuvad antigeeniga kokku ja toodavad ning eritavad suures koguses antikehasid, mis omakorda aitavad kaasa mikroobide hävitamisele, sidudes ja hõlbustades märklaudade leidmist läbi fagotsüütide ning läbi komplemendi süsteemi aktiveerimise. Plasmarakke kutsutakse mõnikord ka antikeha faktoriteks.

Mälu B-rakud moodustuvad aktiveeritud B-rakkudest, mis on primaarse immuunvastuse käigus kohatud antigeeni spetsiifilised. Neil rakkudel on pikk eluiga ning need on võimelised kiireks reageerimiseks pärast teistkordset kontakti sama antigeeniga.

Kui B-rakkude küpsemisprotsessi mõne etapi käigus esineb häireid, tapetakse sellised B-rakud mehhanismiga, mida teatakse apoptoosi nime all. Kui B-rakk tunneb küpsemise käigus ära enda antigeeni, surutakse B-rakk maha (protsess nimega anergia) või läbib see rakk apoptoosi. Luuüdis toodetakse pidevalt uusi B-rakke, kuid ainult väga vähesed B-rakud jäävad ellu, et liituda pikaealiste perifeersete B-rakkude varuga.

Viimastel aastatel on leitud andmeid, mis näitavad B-lümfotsüütide ulatuslikumat rolli immuunvastustes, mille alusel ei ole need rakud pelgalt signaalide passiivsed vastuvõtjad, mis diferentseeruvad nende signaalide toimet antikehasid tootvateks plasma rakkudeks. Lisaks nende traditsioonilistele rollidele antigeeni esitavate rakkude ja antikehasid tootvate plasmarakkude eellastena reguleerivad B-rakud

samuti antigeene esitavate rakkude (ACP-de) ja T-rakkude funktsioone, toodavad tsütokiine ning avaldavad retseptori/ligandi paare, mida peeti varem muude rakutüüpidega piiratuks.

B-rakkudega seonduvad haigused

- 5 Oma kriitilise rolli tõttu immuunsüsteemi reguleerimisel kaasnevad B-rakkude väärtalitusega mitmed haigused. B-rakkude haigused, mida teatakse ka B-rakkudega seonduvate haigustena, on jagatud ulatuslikuks või kontrollimatuks proliferatsiooniks (lümfoomid, leukeemiad) ja B-rakkude arengu/immunoglobuliini tootmise defektideks (immuunpuudulikkused). Enamus (80%) lümfoomidest on
- 10 tingitud B-rakkudest. Näideteks on mitte-Hodgkini lümfoom (MHL), akuutne lümfoblastiline leukeemia (ALL) ja autoimmuunsusega seonduvad haigused.

MHL on lümfotsüütidest tingitud heterogeenne pahaloomuline tuumor. Ameerika Ühendriikides (USA) on selle haiguse esinemissageduseks 65 000 haigusjuhtu aastas ja iga aasta sureb selle haiguse tõttu hinnanguliselt 20 000 inimest

15 (American Cancer Society, 2006; ja SEER Cancer Statistics Review). See haigus võib avalduda igas vanuses, kuid tavaliselt toimub avaldumine üle 40 aasta vanustel täiskasvanutel ning haiguse esinemistõenäosus suureneb vananedes. MHL-i iseloomustab lümfotsüütide kлонаalne proliferatsioon lümfisõlmedes, veres, luuüdis ja põrnas, kuid samas võib hõlmatud olla iga elutähtis organ.

- 20 MHL-i diagnoos ja histoloogiline iseloomustamine toimub läbi morfoloogiliste ja immuunsuse fenotüübi kriteeriumite kombinatsiooni. Hetkel kasutatakse arstide ja patoloogide poolt Maailma Tervishoiuorganisatsiooni (WHO) tuumorite klassifikatsiooni, mis jagab MHL-i pre-B-rakkude ja küpsete B-rakkude või T-rakkude neoplasmideks. PD klassifitseerib MHL-i hetkel kliinilistesse katsetesse
- 25 kaasamiseks kui passiivse või agressiivse. Järjepidavuse eesmärkidel kasutatakse käesolevas patendis sarnast jaotust. Passiivse MHL-i rühma kuuluvad peamiselt follikulaarsed alamtüübid, väikene lümfotsüütiline lümfoom, MALT ja marginaalne tsoon; umbes 50% värskest diagnoositud B-raku MHL-i patsientidest on passiivse MHL-iga. Agressiivse MHL-iga patsientidel on peamiselt difuusete suurte B-
- 30 rakkude (40% värskest diagnoositud patsientidest on difuusete suurte rakkudega), Burkitti ja mantelrakkude histoloogilised diagnoosid.

MHL-i kliiniline kulg on väga varieeruv. Haiguse kliinilise käigu peamiste määrajate hulgas on ka histoloogiline alamtüüp. Enamust MHL-i passiivsetest tüüpidest peetakse ravimatuteks haigusteks. Patsiendid reageerivad alguses kemoteraapiale või antikehasid rakendavale ravile, kuid enamustel patsientidel tekib haigus uuesti. Siiani läbiviidud uuringud ei ole näidanud ellujäämise paranemist varasel sekkumisel. Asümptomaatiliste patsientide korral tundub olevat sobiv "vaata ja oota" strateegia rakendamine, kuni patsiendil tekivad sümptomid või haiguse süvenemine kiireneb. Aja jooksul võib haigus omandada agressiivsema histoloogia. Keskmiseks eluajaks pärast haiguse diagnoosimist on 8 kuni 10 aastat ja passiivse haigusvormiga patsiendid saavad sageli haiguse ravifaasi käigus 3 või rohkem ravikuuri. Läbi aegade on sümptomaatiliste passiivse MHL-i patsientide algseks raviks olnud kombineeritud kemoteraapia. Sagedamini kasutatavateks aineteks on tsüklofosfamiid, vinkristiin ja prednisoon (CVP); tsüklofosfamiid, adriamütsiin, vinkristiin ja prednisoon (CHOP); või puriini analoog fludarabiin. Umbes 70% kuni 80% patsientidest reageerib algsele kemoteraapiale ning haigus vaibub 2-3 aastaks. Lõpuks tekib enamustel patsientidel haigus uuesti. Anti-CD20 antikeha rituksimaabi avastamine ja kliiniline kasutuselevõtt on parandanud patsiendi reageeringu ja eluea näitajaid märkimisväärselt. Hetkel on enamuste patsientide standardraviks rituksimaab + CHOP (R-CHOP) või rituksimaab + CVP (R-CVP). Heaks on kiidetud ka interferooni kasutamine algseks MHL-i raviks koos alküülivate ainetega, kuid selle kombinatsiooni kasutamine USA-s on piiratud.

Rituksimaabi teraapia on osutunud efektiivseks mitme MHL-i tüübi korral ning on hetkel heaks kiidetud esimese astme ravivahendiks nii passiivse (follikulaarse lümfoomi) kui ka agressiivse MHL-i (difuusse suure B-raku lümfoomi) ravimiseks. Kuid anti-CD20 monoklonaalse antikeha (mAb) kasutamisel on ka märkimisväärsed piirangud, näiteks primaarne resistentsus (50% reageering taas tekkinud haigusega passiivse MHL-i patsientidel), omandatud resistentsus (50% reageeringu tase pärast uuesti ravimist), haruldane täielik reageering (2% täielik reageering haiguse uuesti esinemisel) ja jätkuv haiguse taasesinemise muster. Lisaks ei avalda paljud B-rakud CD20 ning seega ei ole paljud B-rakke puudutavad haigused anti-CD20 antikeha teraapiaga ravitavad. CD20 erinevate antigeenide vastastel antikehadel võib olla lümfoomivastaseid toimeid, mis

suudaksid vältida anti-CD20 resistentsust või parandada anti-CD20 teraapia aktiivsust.

Lisaks MHL-ile esineb ka mitmeid teisi B-rakkude väärtalitusest põhjustatud leukeemiate tüüpe. Krooniline lümfotsüütiline leukeemia (ehk krooniline lümfoidi
5 leukeemia või KLL) on täiskasvanutel esinev leukeemia tüüp, mille põhuseks on B-lümfotsüütide ebanormaalne akumulatsioon. KLL korral võivad pahaloomulised lümfotsüüdid tunduda terved ja küpsed, kuid need ei suuda infektsiooniga efektiivselt toime tulla. KLL on enim levinud leukeemia vormiks täiskasvanutel. Meeste oht KLL-i haigestuda on kaks korda suurem kui naistel. Kuid kõige
10 määravamaks riskifaktoriks on vanus. Üle 75% uutest haigusjuhtudest diagnoositakse patsientidel, kes on vanemad kui 50. Iga aasta diagnoositakse üle 10 000 uue haigestumisjuhu ja see haigus põhjustab iga aasta peaaegu 5000 surmajuhtu (American Cancer Society, 2006 ja SEER Cancer Statistics Review).

KLL on ravimatu haigus, kuid enamustel juhtudest süveneb see haigus aeglaselt.
15 Paljud KLL-i haigestunud inimesed jätkavad paljude aastate jooksul tavapäraselt ja aktiivset elustiili. Oma aeglase süvenemise tõttu tavaliselt varases faasis avastatud KLL-i ei ravita, kuna arvatakse, et varane sekkumine ei pikenda eluiga või paranda elukvaliteeti. Selle asemel jälgitakse haiguse käiku aja jooksul. Algne KLL-i ravi sõltub täpsest diagnoosist ja haiguse süvenemisest. KLL-i ravimiseks
20 kasutatakse kümneid erinevaid aineid. Kuigi demonstreeriti, et puriini analoogi fludarabiini kasutamisel saavutatud reageeringu näitajad olid paremad kui kloorambutsiili kasutamisel esmase ravimina, puuduvad tõendid, et fludarabiini kasutamine haiguse varastes etappides üldist eluiga pikendaks. Nii värskest diagnoositud kui ka taasesineva KLL-i ravimiseks on efektiivsed kombineeritud
25 kemoterapia režiimid nagu fludarabiin ja tsüklofosfamid, FCR (fludarabiin, tsüklofosfamid ja rituksimaab) ja CHOP. Oma ohtlikkuse tõttu kasutatakse allogeense luuüdi (tüvirakkude) siirdamist KLL-i esmase ravimeetodina harva.

„Ravile allumatu“ KLL on haigus, mis enam ravile ei allu. Sellisel juhul tuleks kasutada agressiivsemaid ravivõtteid, k.a luuüdi (tüvirakkude) siirdamist. Ravile
30 allumatute luuüdi põhiste haigustega patsientide ravimiseks võib kasutada CD52 vastu suunatud monoklonaalset antikeha alemtusumaabi.

Veel üheks leukeemia tüübiks on akuutne lümfoblastiline leukeemia (ALL), mis on teada ka kui akuutne lümfotsüütiline leukeemia. ALL-i iseloomustab pahaloomuliste ja ebaküpsete valgete vereliblede (ehk lümfoblastide) ületootmine ja pidev pooldumine luuüdis. „Akuutne“ tähistab vereringes leiduvate lümfotsüütide (blastide) diferentseerumata ebaküpset etappi ja et haigus süveneb kiiresti, lühendades patsiendi eluea ravimata jätmisel nädalate või kuudeni. ALL kõige sagedasemaks avaldumisajaks on lapsepõlv ning enamuse juhtudest avaldub 4-5 aasta vanustel lastel. Kõige sagedamini surevad sellesse haigusesse 12-16 aasta vanused lapsed. Hetkel loetakse vähemalt 80% lapsepõlves avalduvatest ALL-i juhtudest ravitavateks. Igal aastal diagnoositakse peaaegu 4000 uut haigusjuhtu ja peaaegu 1500 selle haiguse põhjustatud surma (American Cancer Society, 2006 ja SEER Cancer Statistics Review).

Autoimmuunsuse põhjuseks on organismile omase tolerantsuse kadumine, mis hõlmab selles osalevaid humoraalseid ja/või raku vahendatud immuunmehhanisme. Tsentraalse ja/või perifeerse tolerantsuse kadumise tagajärjedeks on muuhulgas ka isereageerivate B-rakkude ja T-rakkude ellujäämine ja aktiveerumine. Autoimmuunsete haiguste näideteks on reumatoidartriit (RA), süsteemne erütematoosartriit (SLE või luupus), sclerosis multiplex, Sjorgeni sündroom ja idiopaatiline trombotsütopeeniline purpur (ITP). Enamuste autoimmuunsete haiguste patogenees on seotud auto-antikehade tootmisega omaste antigeenide vastu, mis põhjustab erinevaid seonduvaid patoloogiaid. Auto-antikehasid toodetakse terminaalset diferentseerunud plasmarakkude poolt, mis on deriveeritud naiivsetest või mälu B-rakkudest. B-rakkudel võib olla autoimmuunsuse patoloogiale lisaks ka muid toimeid, näiteks antigeeni esitavate rakkudena (APC-dena), mis reageerivad ja stimuleerivad abistajatest T-rakke, stimuleerides seeläbi täiendavalt omase immuunvastuse vastast tsüklit. B-rakkude kadumisel võib olla otsene mõju auto-antikehade tootmisele. On demonstreeritud, et RA ja SLE ravimisel B-rakke kõrvaldava teraapia nagu rituksaaniga on kliiniliselt kasulik mõju mõlemale haiguse klassile (Edwards & Cambridge, Nat. Rev. Immunol. 2006; Dass *et al.*, Future Rheumatol. 2006; Martin & Chan, Annu. Rev. Immunol. 2006).

Kahjuks ei ole teada, millised toimemehhanismid antud märklaud-antigeenile optimaalsed oleksid. Lisaks ei ole teada, millised antikehad oleksid võimelised antud toimemehhanismi vahendamiseks märklaudraku vastu. Mõningatel juhtudel võib antikeha aktiivsuse (Fv-vahendatud või Fc-vahendatud) puudumine olla tingitud märklaud-antigeenil olevast märklauaks olevast epitoobist, mille võime sellist aktiivsust vahendada on halb. Muudel juhtudel võib märklauaks olev epitooop alluda soovitud Fv-vahendatud või Fc-vahendatud aktiivsusele, kuid afiinsusest (Fv piirkonna afiinsus antigeeni suhtes või Fc piirkonna afiinsus Fc retseptorite suhtes) ei pruugi piisata. Selle probleemi lahendamiseks kirjeldatakse käesolevas leiutises anti-CD19 antikehade modifikatsioone, mis pakuvad optimeeritud Fv- ja Fc-vahendatud aktiivsuseid. Käesolevasse leiutisse on kaasatud lai valik nende optimeeritud antikehade kasutusvõimalusi.

LEIUTISE KOKKUVÕTE

Käesolevas leiutises kirjeldatakse CD19 siduvat antikeha, mis sisaldab võrreldes lähteantikehaga konstantses piirkonnas vähemalt ühte modifikatsiooni.

Siin kirjeldatud antikeha seondub muutunud afiinsusega Fc retseptoriga või muudab efektori funktsiooni võrreldes lähteantikehaga.

Lisaks avaldatakse käesolevas leiutises CD19 siduv antikeha, mis sisaldab võrreldes lähteantikehaks oleva anti-CD19 antikehaga konstantses piirkonnas vähemalt ühte modifikatsiooni ja nimetatud antikeha seondub FcγRIIIa retseptoriga suurema afiinsusega kui lähteantikeha.

Mõningates käesoleva leiutise teostustes on modifikatsiooniks aminohape. Modifikatsiooni positsiooniks võib olla 221, 222, 223, 224, 225, 227, 228, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 249, 255, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 278; 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 288, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 313, 317, 318, 320, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336 või 337, kus nummerdus vastab EU indeksile. Aminohappe modifikatsiooniks võib olla asendus rühmast 221K, 221Y, 222E, 222Y, 223E, 223K, 224E, 224Y, 225E, 225K, 225W,

227E, 227G, 227K, 227Y, 228E, 228G, 228K, 228Y, 230A, 230E, 230G, 230Y,
231E, 231G, 231K, 231P, 231Y, 232E, 232G, 232K, 232Y, 233A, 233D, 233F,
233G, 233H, 233I, 233K, 233L, 233M, 233N, 233Q, 233R, 233S, 233T, 233V,
233W, 233Y, 234A, 234D, 234E, 234F, 234G, 234H, 234I, 234K, 234M, 234N,
5 234P, 234Q, 234R, 234S, 234T, 234V, 234W, 234Y, 235A, 235D, 235E, 235F,
235G, 235H, 235I, 235K, 235M, 235N, 235P, 235Q, 235R, 235S, 235T, 235V,
235W, 235Y, 236A, 236D, 236E, 236F, 236H, 236I, 236K, 236L, 236M, 236N,
236P, 236Q, 236R, 236S, 236T, 236V, 236W, 236Y, 237D, 237E, 237F, 237H,
237I, 237K, 237L, 237M, 237N, 237P, 237Q, 237R, 237S, 237T, 237V, 237W,
10 237Y, 238D, 238E, 238F, 238G, 238H, 238I, 238K, 238L, 238M, 238N, 238Q,
238R, 238S, 238T, 238V, 238W, 238Y, 239D, 239E, 239F, 239G, 239H, 239I,
239K, 239L, 239M, 239N, 239P, 239Q, 239R, 239T, 239V, 239W, 239Y, 240A,
240I, 240M, 240T, 241D, 241E, 241L, 241R, 241S, 241W, 241Y, 243E, 243H,
243L, 243Q, 243R, 243W, 243Y, 244H, 245A, 246D, 246E, 246H, 246Y, 247G,
15 247V, 249H, 249Q, 249Y, 255E, 255Y, 258H, 258S, 258Y, 260D, 260E, 260H,
260Y, 262A, 262E, 262F, 262I, 262T, 263A, 263I, 263M, 263T, 264A, 264D, 264E,
264F, 264G, 264H, 264I, 264K, 264L, 264M, 264N, 264P, 264Q, 264R, 264S,
264T, 264W, 264Y, 265F, 265G, 265H, 265I, 265K, 265L, 265M, 265N, 265P,
265Q, 265R, 265S, 265T, 265V, 265W, 265Y, 266A, 266I, 266M, 266T, 267D,
20 267E, 267F, 267H, 267I, 267K, 267L, 267M, 267N, 267P, 267Q, 267R, 267T,
267V, 267W, 267Y, 268D, 268E, 268F, 268G, 268I, 268K, 268L, 268M, 268P,
268Q, 268R, 268T, 268V, 268W, 269F, 269G, 269H, 269I, 269K, 269L, 269M,
269N, 269P, 269R, 269S, 269T, 269V, 269W, 269Y, 270F, 270G, 270H, 270I,
270L, 270M, 270P, 270Q, 270R, 270S, 270T, 270W, 270Y, 271A, 271D, 271E,
25 271F, 271G, 271H, 271I, 271K, 271L, 271M, 271N, 271Q, 271R, 271 S, 271T,
271V, 271W, 271Y, 272D, 272F, 272G, 272H, 272I, 272K, 272L, 272M, 272P,
272R, 272S, 272T, 272V, 272W, 272Y, 273I, 274D, 274E, 274F, 274G, 274H,
274I, 274L, 274M, 274N, 274P, 274R, 274T, 274V, 274W, 274Y, 275L, 275W,
276D, 276E, 276F, 276G, 276H, 276I, 276L, 276M, 276P, 276R, 276S, 276T,
30 276V, 276W, 276Y, 278D, 278E, 278G, 278H, 278I, 278K, 278L, 278M, 278N,
278P, 278Q, 278R, 278S, 278T, 278V, 278W, 280G, 280K, 280L, 280P, 280W,
281D, 281E, 281K, 281N, 281P, 281Q, 281Y, 282E, 282G, 282K, 282P, 282Y;
283G, 283H, 283K, 283L, 283P, 283R, 283Y, 284D, 284E, 284L, 284N, 284Q,

284T, 284Y, 285D, 285E, 285K, 285Q, 285W, 285Y, 286E, 286G, 286P, 286Y,
288D, 288E, 288Y, 290D, 290H, 290L, 290N, 290W, 291D, 291E, 291G, 291H,
291I, 291Q, 291T, 292D, 292E, 292T, 292Y, 293F, 293G, 293H, 293I, 293L,
293M, 293N, 293P, 293R, 293S, 293T, 293V, 293V, 293Y, 294F, 294G, 294H,
5 294I, 294K, 294L, 294M, 294P, 294R, 294S, 294T, 294V, 294W, 294Y, 295D,
295E, 295F, 295G, 295H, 295I, 295M, 295N, 295P, 295R, 295S, 295T, 295V,
295W, 295Y, 296A, 296D, 296E, 296G, 296H, 296I, 296K, 296L, 296M, 296N,
296Q, 296R, 296S, 296T, 296V, 297D, 297E, 297F, 297G, 297H, 297I, 297K,
297L, 297M, 297P, 297Q, 297R, 297S, 297T, 297V, 297W, 297Y, 298A, 298D,
10 298E, 298F, 298H, 298I, 298K, 298M, 298N, 298Q, 298R, 298T, 298W, 298Y,
299A, 299D, 299E, 299F, 299G, 299H, 299I, 299K, 299L, 299M, 299N, 299P,
299Q, 299R, 299S, 299V, 299W, 299Y, 300A, 300D, 300E, 300G, 300H, 300K,
300M, 300N, 300P, 300Q, 300R, 300S, 300T, 300V, 300W, 301D, 301E, 301H,
301Y, 302I, 303D, 303E, 303Y, 304D, 304H, 304L, 304N, 304T, 305E, 305T,
15 305Y, 313F, 317E, 317Q, 318H, 318L, 318Q, 318R, 318Y, 320D, 320F, 320G,
320H, 320I, 320L, 320N, 320P, 320S, 320T, 320V, 320W, 320Y, 322D, 322F,
322G, 322H, 322I, 322P, 322S, 322T, 322V, 322W, 322Y, 323I, 324D, 324F,
324G, 324H, 324I, 324L, 324M, 324P, 324R, 324T, 324V, 324W, 324Y, 325A,
325D, 325E, 325F, 325G, 325H, 325I, 325K, 325L, 325M, 325P, 325Q, 325R,
20 325S, 325T, 325V, 325W, 325Y, 326E, 326I, 326L, 326P, 326T, 327D, 327E,
327F, 327H, 327I, 327K, 327L, 327M, 327N, 327P, 327R, 327S, 327T, 327V,
327W, 327Y, 328A, 328D, 328E, 328F, 328G, 328H, 328T, 328K, 328M, 328N,
328P, 328Q, 328R, 328S, 328T, 328V, 328W, 328Y, 329D, 329E, 329F, 329G,
329H, 329I, 329K, 329L, 329M, 329N, 329Q, 329R, 329S, 329T, 329V, 329W,
25 329Y, 330E, 330F, 330G, 330H, 330I, 330L, 330M, 330N, 330P, 330R, 330S,
330T, 330V, 330W, 330Y, 331D, 331F, 331H, 331I, 331L, 331M, 331Q, 331R,
331T, 331V, 331W, 331Y, 332A, 332D, 332E, 332F, 332H, 332K, 332L, 332M,
332N, 332P, 332Q, 332R, 332S, 332T, 332V, 332W, 332Y, 333A, 333F, 333H,
333I, 333L, 333M, 333P, 333T, 333Y, 334A, 334F, 334I, 334L, 334P, 334T, 335D,
30 335F, 335G, 335H, 335I, 335L, 335M, 335N, 335P, 335R, 335S, 335V, 335W,
335Y, 336E, 336K, 336Y, 337E, 337H ja 337N, kus nummerdus vastab EU
indeksile.

Käesoleva leiutise täiendavates teostustes võib aminohappe modifikatsiooniks olla positsioon 221, 222, 223, 224, 225, 227, 228, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 245, 246, 247, 249, 255, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 274, 275, 276, 278, 280, 281, 282, 283, 5 284, 285, 286, 288, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 313, 317, 318, 320, 322, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336 või 337. Muudes käesoleva leiutise teostustes võib asendus kuuluda rühma 221K, 222Y, 223E, 223K, 224E, 224Y, 225E, 225W, 227E, 227G, 227K, 227Y, 228E, 228G, 228K, 228Y, 230A, 230E, 230G, 230Y, 10 231E, 231G, 231K, 231P, 231Y, 232E, 232G, 232K, 232Y, 233A, 233F, 233H, 233I, 233K, 233L, 233M, 233N, 233Q, 233R, 233S, 233T, 233V, 233W, 233Y, 234D, 234E, 234F, 234G, 234H, 234I, 234K, 234M, 234N, 234P, 234Q, 234R, 234S, 234T, 234W, 234Y, 235D, 235F, 235G, 235H, 235I, 235K, 235M, 235N, 235Q, 235R, 235S, 235T, 235V, 235W, 235Y, 236D, 236E, 236F, 236H, 236I, 15 236K, 236L, 236M, 236N, 236P, 236Q, 236R, 236S, 236T, 236V, 236W, 236Y, 237D, 237E, 237F, 237H, 237I, 237K, 237L, 237M, 237N, 237P, 237Q, 237R, 237S, 237T, 237V, 237W, 237Y, 238D, 238E, 238F, 238G, 238H, 238I, 238K, 238L, 238M, 238N, 238Q, 238R, 238S, 238T, 238V, 238W, 238Y, 239D, 239E, 239F, 239G, 239H, 239I, 239K, 239L, 239M, 239N, 239P, 239Q, 239R, 239T, 20 239V, 239W, 239Y, 240M, 240T, 241D, 241E, 241R, 241S, 241W, 241Y, 243E, 243H, 243Q, 243R, 243W, 243Y, 245A, 246D, 246H, 246Y, 247G, 247V, 249H, 249Q, 249Y, 255E, 255Y, 258H, 258S, 258Y, 260D, 260E, 260H, 260Y, 262A, 262E, 262F, 262I, 262T, 263A, 263I, 263M, 263T, 264D, 264E, 264F, 264G, 264H, 264I, 264K, 264L, 264M, 264N, 264P, 264Q, 264R, 264S, 264T, 264W, 25 264Y, 265F, 265G, 265H, 265I, 265K, 265L, 265M, 265P, 265Q, 265R, 265S, 265T, 265V, 265W, 265Y, 266A, 266I, 266M, 266T, 267D, 267E, 267F, 267H, 267I, 267K, 267L, 267M, 267N, 267P, 267Q, 267R, 267V, 267W, 267Y, 268F, 268G, 268I, 268M, 268P, 268T, 268V, 268W, 269F, 269G, 269H, 269I, 269L, 269M, 269N, 269P, 269R, 269S, 269T, 269V, 269W, 269Y, 270F, 270G, 270H, 30 270I, 270L, 270M, 270P, 270Q, 270R, 270S, 270T, 270W, 270Y, 271A, 271D, 271E, 271F, 271G, 271H, 271I, 271K, 271L, 271M, 271N, 271Q, 271R, 271S, 271T, 271V, 271W, 271Y, 272F, 272G, 272H, 272I, 272K, 272L, 272M, 272P, 272R, 272S, 272T, 272V, 272W, 272Y, 274D, 274E, 274F, 274G, 274H, 274I,

274L, 274M, 274P, 274R, 274T, 274V, 274W, 274Y, 275W, 276D, 276E, 276F, 276G, 276H, 276I, 276L, 276M, 276P, 276R, 276S, 276T, 276V, 276W, 278D, 278E, 278G, 278H, 278I, 278K, 278L, 278M, 278N, 278P, 278Q, 278R, 278S, 278T, 278V, 278W, 280G, 280P, 280W, 281E, 281K, 281N, 281P, 281Y, 282G, 5 282P, 282Y, 283G, 283H, 283K, 283L, 283P, 283R, 283Y, 284L, 284N, 284Q, 284T, 284Y, 285K, 285Q, 285W, 285Y, 286G, 286P, 286Y, 288Y, 290H, 290L, 290W, 291D, 291E, 291G, 291H, 291I, 291Q, 291T, 292D, 292E, 292T, 292Y, 293F, 293G, 293H, 293I, 293L, 293M, 293N, 293P, 293R, 293S, 293T, 293W, 293Y, 294F, 294G, 294H, 294I, 294K, 294L, 294M, 294P, 294R, 294S, 294T, 10 294V, 294W, 294Y, 295D, 295F, 295G, 295H, 295I, 295M, 295N, 295P, 295R, 295S, 295T, 295V, 295W, 295Y, 296A, 296D, 296E, 296G, 296I, 296K, 296L, 296M, 296N, 296Q, 296R, 296S, 296T, 296V, 297D, 297E, 297F, 297G, 297H, 297I, 297K, 297L, 297M, 297P, 297R, 297S, 297T, 297V, 297W, 297Y, 298E, 298F, 298H, 298I, 298L, 298M, 298Q, 298R, 298W, 298Y, 299A, 299D, 299E, 15 299F, 299G, 299H, 299I, 299K, 299L, 299M, 299N, 299P, 299Q, 299R, 299S, 299V, 299W, 299Y, 300A, 300D, 300E, 300G, 300H, 300K, 300M, 300N, 300P, 300Q, 300R, 300S, 300T, 300V, 300W, 301D, 301E, 301Y, 302I, 303D, 303E, 303Y, 304H, 304L, 304N, 304T, 305E, 305T, 305Y, 313F, 317E, 317Q, 318H, 318L, 318Q, 318R, 318Y, 320D, 320F, 320G, 320H, 320I, 320L, 320N, 320P, 20 320S, 320T, 320V, 320W, 320Y, 322D, 322F, 322G, 322H, 322I, 322P, 322S, 322T, 322V, 322W, 322Y, 324D, 324F, 324G, 324H, 324I, 324L, 324M, 324P, 324R, 324T, 324V, 324W, 324Y, 325A, 325D, 325E, 325F, 325G, 325H, 325I, 325K, 325L, 325M, 325P, 325Q, 325R, 325S, 325T, 325V, 325W, 325Y, 326L, 326P, 326T, 327D, 327E, 327F, 327H, 327I, 327K, 327L, 327M, 327P, 327R, 25 327V, 327W, 327Y, 328A, 328D, 328E, 328F, 328G, 328H, 328K, 328M, 328N, 328P, 328Q, 328R, 328S, 328T, 328V, 328W, 328Y, 329D, 329E, 329F, 329G, 329H, 329I, 329K, 329L, 329M, 329N, 329Q, 329R, 329S, 329T, 329V, 329W, 329Y, 330E, 330F, 330H, 330I, 330L, 330M, 330N, 330P, 330W, 330Y, 331D, 331F, 331H, 331I, 331L, 331Q, 331R, 331T, 331V, 331W, 331Y, 332A, 30 332F, 332H, 332L, 332M, 332N, 332P, 332Q, 332S, 332T, 332V, 332W, 332Y, 333F, 333H, 333I, 333L, 333M, 333P, 333T, 333Y, 334F, 334P, 334T, 335D, 335F, 335G, 335H, 335I, 335L, 335M, 335P, 335R, 335S, 335V, 335W, 335Y, 336E, 336K, 336Y, 337H ja 337N.

- Ühes täiendavas käesoleva leiutise teostuses on modifikatsiooniks positsioon 221, 222, 223, 224, 225, 228, 230, 231, 232, 240, 244, 245, 247, 262, 263, 266, 271, 273, 275, 281, 284, 291, 299, 302, 304, 313, 323, 325, 328, 332 või 336, kus positsiooni nummerdus vastab EU indeksile. Täiendavates teostustes on
- 5 modifikatsioon valitud rühmast, kuhu kuuluvad 221K, 221Y, 222E, 222Y, 223E, 223K, 224E, 224Y, 225E, 225K, 225W, 228E, 228G, 228K, 228Y, 230A, 230E, 230G, 230Y, 231E, 231G, 231K, 231P, 231Y, 232E, 232G, 232K, 232Y, 240A, 240I, 240M, 240T, 244H, 245A, 247G, 247V, 262A, 262E, 262F, 262I, 262T, -
- 10 263A, 263I, 263M, 263T, 266A, 266I, 266M, 266T, 271A, 271D, 271E, 271F, 271G, 271H, 27H, 271K, 271L, 271M, 271N, 271Q, 271R, 271S, 271T, 271V, 271W, 271Y, 273I, 275L, 275W, 281D, 281E, 281K, 281N, 281P, 281Q, 281Y, 284D, 284E, 284L, 284N, 284Q, 284T, 284Y, 291D, 291E, 291G, 291H, 291I, 291Q, 291T, 299A, 299D, 299E, 299F, 299G, 299H, 299I, 299K, 299L, 299M, 299N, 299P, 299Q, 299R, 299S, 299V, 299W, 299Y, 304D, 304H, 304L, 304N,
- 15 304T, 313F, 323I, 325A, 325D, 325E, 325F, 325G, 325H, 325I, 325K, 325L, 325M, 325P, 325Q, 325R, 325S, 325T, 325V, 325W, 325Y, 328A, 328D, 328E, 328F, 328G, 328H, 328I, 328K, 328M, 328N, 328P, 328Q, 328R, 328S, 328T, 328V, 328W, 328Y, 332A, 332D, 332E, 332F, 332H, 332K, 332L, 332M, 332N, 332P, 332Q, 332R, 332S, 332T, 332V, 332W, 332Y, 336E, 336K ja 336Y.
- 20 Antikeha võib sisaldada lisaks positsioonil 221, 222, 223, 224, 225, 227, 228, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 249, 255, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 278; 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 288, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 0,303, 304, 305, 313, 317, 318, 320,
- 25 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336 või 337 teist aminohape modifikatsiooni, kus positsioonide nummerdus vastab EU indeksile. Teiseks aminohappe modifikatsiooniks võib olla asendus 221K, 221Y, 222E, 222Y, 223E, 223K, 224E, 224Y, 225E, 225K, 225W, 227E, 227G, 227K, 227Y, 228E, 228G, 228K, 228Y, 230A, 230E, 230G, 230Y, 231E, 231G, 231K,
- 30 231P, 231Y, 232E, 232G, 232K, 232Y, 233A, 233D, 233F, 233G, 233H, 233I, 233K, 233L, 233M, 233N, 233Q, 233R, 233S, 233T, 233V, 233W, 233Y, 234A, 234D, 234E, 234F, 234G, 234H, 234I, 234K, 234M, 234N, 234P, 234Q, 234R, 234S, 234T, 234V, 234W, 234Y, 235A, 235D, 235E, 235F, 235G, 235H, 235I,

235K, 235M, 235N, 235P, 235Q, 235R, 235S, 235T, 235V, 235W, 235Y, 236A,
236D, 236E, 236F, 236H, 236I, 236K, 236L, 236M, 236N, 236P, 236Q, 236R,
236S, 236T, 236V, 236W, 236Y, 237D, 237E, 237F, 237H, 237I, 237K, 237L,
237M, 237N, 237P, 237Q, 237R, 237S, 237T, 237V, 237W, 237Y, 238D, 238E,
5 238F, 238G, 238H, 238I, 238K, 238L, 238M, 238N, 238Q, 238R, 238S, 238T,
238V, 238W, 238Y, 239D, 239E, 239F, 239G, 239H, 239I, 239K, 239L, 239M,
239N, 239P, 239Q, 239R, 239T, 239V, 239W, 239Y, 240A, 240I, 240M, 240T,
241D, 241E, 241L, 241R, 241S, 241W, 241Y, 243E, 243H, 243L, 243Q, 243R,
243W, 243Y, 244H, 245A, 246D, 246E, 246H, 246Y, 247G, 247V, 249H, 249Q,
10 249Y, 255E, 255Y, 258H, 258I, 258Y, 260D, 260E, 260H, 260Y, 262A, 262E,
262F, 262I, 262T, 263A, 263I, 263M, 263T, 264A, 264D, 264E, 264F, 264G,
264H, 264I, 264K, 264L, 264M, 264N, 264P, 264Q, 264R, 264S, 264T, 264W,
264Y, 265F, 265G, 265H, 265I, 265K, 265L, 265M, 265N, 265P, 265Q, 265R,
265S, 265T, 265V, 265W, 266Y, 266A, 266I, 266M, 266T, 267D, 267E, 267F,
15 267H, 267I, 267K, 267L, 267M, 267N, 267P, 267Q, 267R, 267T, 267V, 267W,
267Y, 268D, 268E, 268F, 268G, 268I, 268K, 268L, 268M, 268P, 268Q, 268R,
268T, 268V, 268W, 269F, 269G, 269H, 269I, 269K, 269L, 269M, 269N, 269P,
269R, 269S, 269T, 269V, 269W, 269Y, 270F, 270G, 270H, 270I, 270L, 270M,
270P, 270Q, 270R, 270S, 270T, 270W, 270Y, 271A, 271D, 271E, 271F, 271G,
20 271H, 271I, 271K, 271L, 271M, 271N, 271Q, 271R, 271S, 271T, 271V, 271W,
271Y, 272D, 272F, 272G, 272H, 272I, 272K, 272L, 272M, 272P, 272R, 272S,
272T, 272V, 272W, 272Y, 273I, 274D, 274E, 274F, 274G, 274H, 274I, 274L,
274M, 274N, 274P, 274R, 274T, 274V, 274W, 274Y, 275L, 275W, 276D, 276E,
276F, 276G, 276H, 276I, 276L, 276M, 276P, 276R, 276S, 276T, 276V, 276W,
25 276Y, 278D, 278E, 278G, 278H, 278I, 278K, 278L, 278M, 278N, 278P, 278Q,
278R, 278S, 278T, 278V, 278W, 280G, 280K, 280L, 280P, 280W, 281D, 281E,
281K, 281N, 281P, 281Q, 281Y, 282E, 282G, 282K, 282P, 282Y, 283G, 283H,
283K, 283L, 283P, 283R, 283Y, 284D, 284E, 284L, 284N, 284Q, 284T, 284Y,
285D, 285E, 285K, 285Q, 285W, 285Y, 286E, 286G, 286P, 286Y, 288D, 288E,
30 288Y, 290D, 290H, 290L, 290N, 290W, 291D, 291E, 291G, 291H, 291I, 291Q,
291T, 292D, 292E, 292T, 292Y, 293F, 293G, 293H, 293I, 293L, 293M, 293N,
293P, 293R, 293S, 293T, 293V, 293W, 293Y, 294F, 294G, 294H, 294I, 294K,
294L, 294M, 294P, 294R, 294S, 294T, 294V, 294W, 294Y, 295D, 295E, 295F,

295G, 295H, 295I, 295M, 295N, 295P, 295R, 295S, 295T, 295V, 295W, 295Y,
296A, 296D, 296E, 296G, 296H, 296I, 236K, 296L, 296M, 296N, 296Q, 296R,
296S, 296T, 296V, 297D, 297E, 297F, 297G, 297H, 297I, 297K, 297L, 297M,
297P, 297Q, 297R, 297S, 297T, 297V, 297W, 297Y, 298A, 298D, 298E, 298F,
5 298H, 298I, 298K, 298M, 298N, 298Q, 298R, 298T, 298W, 298Y, 299A, 299D,
299E, 299F, 299G, 299H, 299I, 299K, 299L, 299M, 299N, 299P, 299Q, 299R,
299S, 299V, 299W, 299Y, 300A, 300D, 300E, 300G, 300H, 300K, 300M, 300N,
300P, 300Q, 300R, 300S, 300T, 300V, 300W, 301D, 301E, 301H, 301Y, 302I,
303D, 303E, 303Y, 304D, 304H, 304L, 304N, 304T, 305E, 305T, 305Y, 313F,
10 317E, 317Q, 318H, 318L, 318Q, 318R, 318Y, 320D, 320F, 320G, 320H, 320I,
320L, 320N, 320P, 320S, 320T, 320V, 320W, 320Y, 322D, 322F, 322G, 322H,
322I, 322P, 322S, 322T, 322V, 322W, 322Y, 323I, 324D, 324F, 324G, 324H,
324I, 324L, 324M, 324P, 324R, 324T, 324V, 324W, 324Y, 325A, 325D, 325E,
325F, 325G, 325H, 325I, 325K, 325L, 325M, 325P, 325Q, 325R, 325S, 325T,
15 325V, 325W, 325Y, 326E, 326I, 326L, 326P, 326T, 327D, 327E, 327F, 327H,
327I, 327K, 327L, 327M, 327N, 327P, 327R, 327S, 327T, 327V, 327W, 327Y,
328A, 328D, 328E, 328F, 328G, 328H, 328I, 328K, 328M, 328N, 328P, 328Q,
328R, 328S, 328T, 328V, 328W, 328Y, 329D, 329E, 329F, 329G, 329H, 329I,
329K, 329L, 329M, 329N, 329Q, 329R, 329S, 329T, 329V, 329W, 329Y, 330E,
20 330F, 330G, 330H, 330I, 330L, 330M, 330N, 330P, 330R, 330S, 330T, 330V,
330W, 330Y, 331D, 331F, 331H, 331I, 331L, 331M, 331Q, 331R, 331T, 331V,
331W, 331Y, 332A, 332D, 332E, 332F, 332H, 332K, 332L, 332M, 332N, 332P,
332Q, 332R, 332S, 332T, 332V, 332W, 332Y, 333A, 333F, 333H, 333I, 333L,
333M, 333P, 333T, 333Y, 334A, 334F, 334I, 334L, 334P, 334T, 335D, 335F,
25 335G, 335H, 335I, 335L, 335M, 335N, 335P, 335R, 335S, 335V, 335W, 335Y,
336E, 336K, 336Y, 337E, 337H või 337N, kus nummerdus vastab EU indeksile.

Täiendavates käesoleva leiutise teostustes on aminohappe modifikatsiooniks
332E. Teine aminohappe modifikatsioon võib olla valitud rühmast, kuhu kuuluvad:
236A, 239D, 332E, 268D, 268E, 330Y ja 330L. Teatud käesoleva leiutise
30 teostustes on teiseks aminohappe modifikatsiooniks 239D.

Muudes käesoleva leiutise teostustes on modifikatsioonideks glükoformi
modifikatsioonid, mis vähendavad fukoosi tasemeid võrreldes lähteantikehaga.

Muud käesoleva leiutise teostused on seotud ravimkoostisega, mis sisaldavad mitut nõudluspunktides defineeritud glükosüülitud antikeha ja umbes 80-100% koostise glükosüülitud antikehadest sisaldavad fukoosivaba küpset tuuma süsivesiku struktuuri.

- 5 Ühes täiendavas teostuses vähendab antikeha võrreldes lähteantikehast anti-CD19 antikehaga seondumist FcγRIIb.

Käesolevas leiutises avaldatakse antikeha, mis seondub CD19-ga ja sisaldab varieeruva piirkonna rasket ahelat järjestusega SEQ ID NO: 40 ning varieeruva piirkonna kerget ahelat järjestusega SEQ ID NO: 58. Raske ahela CDR1 sisaldab aminohappejärjestust SEQ ID NO: 132 ning CDR2 ja CDR3 aminohappejärjestusega SEQ ID NO: 116. Kergel ahelal on CDR1 aminohappejärjestusega SEQ ID NO: 120, CDR2 aminohappejärjestusega SEQ ID NO: 129 ja CDR3 aminohappejärjestusega SEQ ID NO: 130.

Siin kirjeldatud antikeha varieeruva piirkonna raske ahela järjestus võib olla valitud rühmast, kuhu kuuluvad SEQ ID NO: 13-16, 20-23 ja 27-39 ning 41-44 ja/või varieeruva piirkonna kerge ahela järjestus, mis on valitud rühmast, kuhu kuuluvad SEQ ID NO: 17-19, 24-26, 45-57 ja 59-79.

Ja täiendavates teostustes võib antikeha sisaldada raske ahela järjestust, mis on valitud rühmast, kuhu kuuluvad SEQ ID NO: 86 ning 88 kuni 95 ja/või kerge ahela järjestust, mis on valitud rühmast, kuhu kuuluvad SEQ ID NO: 96 kuni 105 ja 107 kuni 110. Käesoleva leiutise antikeha sisaldab ka kerget ahelat, mille järjestus on SEQ ID NO: 106 ja rasket ahelat, mille järjestus on SEQ ID NO: 87.

Erinevates muudes teostustes seondub käesolev leiutis nukleiinhappejärjestusega, mis kodeerib nõudluspunktides defineeritud antikeha.

25 Käesolev leiutis seondub nõudluspunktides defineeritud antikeha või nõudluspunktides defineeritud ravimkoostise kasutamisega haiguse ravimiseks, mis on valitud rühmast, kuhu kuuluvad mitte-Hodgkini lümfoomid (MHL), krooniline lümfotsüütiline leukeemia (KLL), B-raku akuutne lümfoblastiline leukeemia/lümfoom (B-ALL) ja mantelraku lümfoom (MRL).

Täiendavad käesoleva leiutise teostused on suunatud ravimkoostisele, mis sisaldab nõudluspunktides defineeritud antikeha või ravimkoostist ning farmatseutiliselt sobivat tugiainet.

JOONISTE LOETELU

- 5 Järgnevad joonised on mõeldud käesoleva leiutise teostuste täiendavaks illustreerimiseks ja ei kujuta endast käesoleva leiutise ühegi praktilise kasutusotstarbe teoreetilisi või praktilisi piiranguid.

Joonis Fig 1: *homo sapiens* CD19 aminohappejärjestus, mis on saadud cDNA kloonist MGC: 12802, IMAGE: 4054919, GenBank viitenr BC006338.

- 10 Joonis Fig 2. Looduslikult esineva antikeha konstantsete piirkondade järjestused, mis sisaldavad IgG1, IgG2, IgG3 ja IgG4 kapp konstantse piirkonna kerget ahelat ja gamma konstantse piirkonna raskeid ahelaid. Samuti on avaldatud hübriidse IgG konstantse piirkonna ahel ja hübriidse IgG konstantse piirkonna ahel, mis sisaldab asendusi 239D ja I332E.

- 15 Joonis Fig 3. Inimese IgG immunoglobuliinide IgG1, IgG2, IgG3 ja IgG4 aminohappejärjestuste reastus. Joonisel Fig 3a on avaldatud CH1 (C_γ1) ja hingedomäänide järjestused ning joonisel Fig 3b on avaldatud CH2 (C_γ2) ja CH3 (C_γ3) domäänide järjestused. Positsioonid on nummerdatud vastavalt IgG1 järjestuse EU indeksile ning IgG1 ja muude immunoglobuliinide IgG2, IgG3 ja IgG4 vahelised erinevused on märgistatud halliga. Allotüüpilised polümorfismid esinevad erinevatel positsioonidel ja seega võivad esineda väikesed erinevused avaldatud järjestuste ning varasemast teadaolevate järjestuste vahel. Fc piirkonna võimalikud algused on märgistatud, olles tähistatud siin kui EU positsioonid 226 või 230.

- 25 Joonis Fig 4. Inimese IgG1 (joonis Fig 4a) ja IgG2 (joonis Fig 4b) gamma ahela levinud haplotüübid, näidates vastavaid aminohappeasendusi ning nende positsioone.

Joonis Fig 5. Retseptori sidumisprofiilide eelistatud teostused, mis sisaldavad erinevate retseptoritega seondumise suurenemist, vähenemist või ei oma sellisele

seondumisele mõju ning sellised muutused võivad olla teatud kontekstis soovitatavad.

Joonis Fig 6. Algsete 4G7 ja HD37 antikehade raske ahela ja kerge ahela varieeruvate piirkondade (H0 ja L0) aminohappejärjestused. Joonisel Fig 6a on avaldatud VH ja VL domäänide järjestused ning joonisel Fig 6b on avaldatud CDR-ide järjestused. CDR-i piirid määratakse Kabati konventsiooni alusel (VH CDR1: 31-35b, VH CDR2: 50-65, VH CDR3: 95-102, VL CDR1: 24-34, VL CDR2: 50-56 ja VL CDR3: 89-97).

Joonis Fig 7. 4G7 hübriidi S239D/I332E ja 4G7 IgG1 antikeha suhtelised sidumisafiinsused erinevate Fc retseptoritega.

Joonis Fig 8. 4G7 hübriidi S239D/I332E, HD37 hübriidi S239D/I332E, 4G7 IgG1, HD37 IgG1 ja negatiivse kontrollantikeha ADCC väärtused Daudi rakuliinis (joonis Fig 8a) ja 4G7 hübriidi S239D/I332E, 4G7 IgG1, rituksimaabi ja negatiivse kontrollantikeha ADCC väärtused SUP-B1 ja Raji rakuliinides (Joonis Fig 8b).

Joonis Fig 9. 4G7 hübriidi S239D/I332E rakupinna sidumisanalüüs Raji rakkudega.

Joonis Fig 10. Joonisel Fig 10a on kujutatud 4G7 hübriidi S239D/I332E, 4G7 IgG1 ja rituksimaabi ADCC analüüse 14 erinevaid lümfoome ja leukeemiaid kujutava rakuliiniga. Nii parameetrite potentsiaal (EC50) kui ka efektiivsus (% ADCC) normaliseeriti rituksimaabi vastavale väärtusele (anti-CD20). Joonisel Fig 10b on loetletud analüüsitud lümfoomi ja leukeemia rakuliinid.

Joonis Fig 11. Raske ahela varieeruva piirkonna järjestused, mille immunogeensus anti-CD19 antikeha 4G7 suhtes on vähenenud.

Joonis Fig 12. Kerge ahela varieeruva piirkonna järjestused, mille immunogeensus anti-CD19 antikeha 4G7 suhtes on vähenenud.

Joonis Fig 13. Raske ahela varieeruva piirkonna järjestused, mille immunogeensus anti-CD19 antikeha HD37 suhtes on vähenenud.

Joonis Fig 14. Kerge ahela varieeruva piirkonna järjestused, mille immunogeensus anti-CD19 antikeha HD37 suhtes on vähenenud.

Joonis Fig 15. Vähenenud immunogeensusena 4G7 variantide rakupinna sidumisanalüüside tulemused Raji rakkudega (joonis Fig 15a) ja HD37_H21 hübriidi S239D/I332E ja 4G7_H1L3 hübriidi S239D/I332E ADCC tulemused MEC-1 rakkudel (joonis Fig 15b).

Joonis Fig 16. Rakkude sidumisasiinsus RS4;11 rakkudel - kypse afiinsusega 4G7 rakkude võrdlus H1L1 mAb-ga.

Joonis Fig 17. Rakkude sidumisandmed RS4;11 rakkude 4G7 variantidega, mida oli inkubeeritud 5 päeva temperatuuril 37 °C pH 9,0 200 mM Tris-HCl-is ja mis demonstreerisid paremat stabiilsust.

Joonis Fig 18. Anti-CD19 raske ahela variantide järjestused, mis suurendavad afiinsust ja/või stabiilsust.

Joonis Fig 19. Anti-CD19 kerge ahela variantide järjestused, mis suurendavad afiinsust ja/või stabiilsust.

Joonis Fig 20. 4G7 hübriidi S239D/I332E antiproliferatiivsed omadused Raji rakkudel.

Joonis Fig 21. 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidi S239D/I332E antiproliferatiivsed omadused SU-DHL-6 rakkudele koos ja ilma ristsidumiseta.

Joonis Fig 22; Raji ja RS4;11 rakkude fagotsütoos 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidiga S239D/I332E.

Joonis Fig 23. 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidi S239D/I332E ADCC andmed hulgilümfoomi rakuliinide vastu puhastatud looduslikult esinevaid tapjarakke kasutades.

Joonis Fig 24. 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidi S239D/I332E seondumine 293T rakkudega, mida on transfekteritud inimese CD19.

Joonis Fig 25. 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidi S239D/I332E ristreaktiivsus nii rekombinantse makaagi *Macaca fascicularise* kui ka reesusahvi CD19.

5 Joonis Fig 26: RS4;11 ja MEC-1 rakkude ADCC andmed, kasutades parema efektorfunktsiooniga anti-CD19 antikeha (4G7 H1L1 hübriid S239D/I332E) koos madalama fukoosi sisaldusega, mis saadi läbi ekspressiooni Lec13 süsteemis.

Joonis Fig 27. Parema stabiilsuse ja/või afiinsuse saavutamiseks tehtud üksikud asendused. Muutuva piirkonna nummerdus vastab Kabatile. CDR-idesse on lisatud laiendatud positsioonide komplekt. Joonisel Fig 6 loetletud Kabati
10 defineeritud vastavad CDR-i piirid on näidatud hallina.

Joonis Fig 28. Anti-CD19 muutuva piirkonna variandid, mis on loodud afiinsuse ja stabiilsuse optimeerimiseks.

Joonis Fig 29. Eelistatud variandid ja sidumisafiinsuse suhteline suurenemine võrreldes lähteantikehast H1L1 mAb-ga.

15 Joonis Fig 30. B-raku proliferatsiooni analüüs, mis näitab variandist anti-CD19 antikehade võimet primaarsete B-rakkude eluvõimet inhibeerida. Joonisel Fig 30a on kujutatud anti-müü antikeha doosi suuruse mõju B-rakkude proliferatsioonile. Joonisel Fig 30b on kujutatud B-rakkude proliferatsiooni fikseeritud anti-müü (2 mg/ml) ja erinevate anti-CD19 WT ja Fc variantide kontsentratsioonide ning anti-
20 CD30 Fc variandi kontroll-antikehade juuresolekul. anti-anti-CD19_IgG1_WT = 4G7_H3_L1 IgG1_WT, anti-CD19_hübriid_S239D/I332E = 4G7_H3_L1_hübriid_239D/332E ja anti-CD30_S239D/I332E, mida kasutatakse siin negatiivse kontrollina = AC10_H3.69V2_L3.71_hübriid_239D/332E (avaldatud USA patendis 2007/0166309, Lazar G.A. *et al.*, esitatud 15. märtsil 2007).

25 LEIUTISE DETAILNE KIRJELDUS

Käesolevas leiutises avaldatakse modifitseeritud anti-CD19 antikehad ja nende kasutamismeetodid. Käesoleva leiutise erinevad teostused puudutavad antikehasid, millel on modifitseeritud Fc piirkond, spetsiifilised CDR-i järjestused, varieeruva piirkonna järjestused ja/või konstantse piirkonna modifikatsioonid.

Antikehad võivad olla humaniseeritud. Käesolev leiutis seondub lisaks nõudluspunktides defineeritud antikehade ja ravimkoostiste kasutamisega haiguste sümptomite ravimiseks ning nimetatud haiguste näideteks on mitte-Hodgkini lümfoom (MHL), B-raku akuutne lümfoblastiline leukeemia (ALL) ning 5 muud nõudluspunktides loetletud haigused.

Et käesolevat leiutist paremini mõista, on leiutisse lisatud mitmed definitsioonid. Sellised definitsioonid on mõeldud hõlmama ka grammatiliselt samaväärseid sõnastusi.

„ADCC“ või „antikehast sõltuv raku vahendatud tsütoksilisus“ tähendab siin 10 kasutatuna raku vahendatud reaktsiooni, kus FcγR-e avaldavad mittespetsiifilised tsütotoksilised rakud tuvastavad märklaudrakul seotud antikeha ja põhjustavad seejärel märklaudraku lahustumise. Käesoleva leiutise erinevates teostustes võib võimendatud ADCC efektorfunktsioon tähendada võimendatud potentsiaali või võimendatud efektiivsust. Käesolevas leiutises tähendab „potentsiaal“ antikeha 15 kontsentratsiooni, mille korral mingi konkreetse terapeutilise toime ulatus on EC₅₀ (pool maksimaalsest efektiivsest kontsentratsioonist). „Efektiivsuse“ all peetakse silmas maksimaalset võimalikku efektorfunktsiooni antikeha küllastavatel tasemetel.

„ADCP“ või „antikehast sõltuv raku vahendatud fagotsütoos“ tähendab siin 20 kasutatuna raku vahendatud reaktsiooni, kus FcγR-e avaldavad mittespetsiifilised tsütotoksilised rakud tuvastavad märklaudrakul seotud antikeha ja põhjustavad seejärel märklaudraku fagotsütoosi.

„Aminohape“ või „aminohappe identsus“ tähendab siin kasutatuna ühte 20-st looduslikult esinevast aminohappest või iga kunstlikku analoogi, mis võib 25 täpsustatud positsioonil esineda. Seega tähistab „aminohape“ siin kasutatuna nii looduslikult esinevaid kui ka sünteetilisi aminohappeid. Näiteks käesoleva leiutise eesmärkidel loetakse aminohapeteks ka homofenüalaniini, tsitrulliini ja norleutsiini. „Aminohape“ hõlmab samuti iminohappe jääke nagu proliini ja hüdroksüproliini. Kõrvalahel võib olla (R) või (S) konfiguratsioonis. Eelistatud 30 teostuses on aminohapped (S) või L-konfiguratsioonis. Kui kasutatakse sünteetilisi

kõrvalahelaid, võib kasutada aminohapetest erinevaid asendajaid, näiteks *in vivo* degradatsioonitakistamiseks või segamiseks.

„B-raku“ või „B-lümfotsüüdi“ all peetakse silmas lümfotsüüdi arenenud lümfotsüüti, mis esineb vereringes ning lümfis ja tekitab humoraalse immuunsuse. B-rakud tunnevad ära vaba antigeeni molekule ning diferentseeruvad või küpsevad plasmarakkudeks, mis omakorda eritavad antigeene inaktiveerivaid immunoglobuliine (antikehasid). Samuti luuakse mälu- ja plasma-rakud, mis loovad järgmisel selle antigeeni kokkupuutumisel vastava immunoglobuliini (antikeha). B-rakud on teada ka kui Langerhansi saarekeses olevad "beeta-rakud".

10 „B-raku antigeen“ või „B-raku marker“ tähendab siin kasutatuna iga valku, mida B-rakkudel avaldatakse.

„CD19“ all mõeldakse valku järjestusega SEQ ID NO: 1 (kujutatud joonisel Fig 1). CD19 on teada ka kui B-raku pinna antigeen B4, B-raku antigeen CD19, CD19 antigeen ja Leu-12. Inimese CD19 on tähistatud Entrez Gene tähistusega GeneID: 930 ja HGNC tähistusega HGNC: 1633. CD19 saab kodeerida CD19 määratud geeniga. „CD19“ hõlmab käesolevas leiutises kõiki teadaolevaid ja veel avastamata CD19 allelele ja polümorfseid vorme.

„CDC“ või „komplementist sõltuv tsütotoksilisus“ tähendab siin kasutatuna reaktsiooni, kus üks või rohkem komplemendi valgu komponenti tuvastavad märklaudrakul seotud antikeha ja põhjustavad märklaudraku lahustumise.

„Konstantne piirkond“ tähistab siin kasutatuna polüpeptiidi, mis sisaldab vähemalt osa antikeha esimesest kolmest konstantsest piirkonnast, millel on vähemalt üks efektori funktsioon. Seega tähistab konstantne piirkond IgA, IgD ja IgG viimase kolme konstantse piirkonna immunoglobuliini domääne ja IgE ja IgM ning nende domäänide paindliku hinge N-otsa viimase nelja konstantse piirkonna immunoglobuliini domääne. IgA ja IgM korral võib Fc sisaldada J ahelat. IgG korral sisaldab konstantne piirkond immunoglobuliini domääne Cgamma1, Cgamma2 ja Cgamma3 (Cγ1, Cγ2 ja Cγ3) ning Cgamma1 (Cγ1) ja Cgamma2 (Cγ2) vahelist hinge-piirkonda. Kuigi konstantse piirkonna piirid võivad erineda, eeldatakse inimese IgG raske ahela Fc piirkond sisaldavat jääke tavaliselt oma karboksüül-

otsas, kus nummerdus vastab Kabati EU indeksile. Konstantse piirkonna kerge ahel sisaldab tavaliselt üksikut domääni ja tähistab siin defineerituna C κ või C λ positsioone 108-214, kus nummerdus vastab EU indeksile. Täispikkade IgG antikehade korral tähistab siin defineeritud konstantne raske ahel piirkonda CH1

5 domääni N-otsast CH3 domääni C-otsani või positsioone 118-447, kus nummerdus vastab EU indeksile. „Konstantne piirkond“ võib tähistada seda piirkonda eraldatuna või lühendust või fusiooni, mis sisaldab antikehasid, Fc fusioone, eraldatud Fc-sid ja Fc fragmente. Käesoleva leiutise erinevates teostustes võib konstantseks piirkonnaks olla antikeha piirkond, mida kodeeritakse

10 ühega kerge või raske ahela immunoglobuliini konstantse piirkonna geenidest ehk antikeha piirkond, mida kodeeritakse kappa (C κ) või lambda (C λ) kergete ahelatega. Erinevates käesoleva leiutise teostustes võib konstantseks raskeks ahelaks või raske ahela konstantseks piirkonnaks olla antikeha piirkond, mida kodeeritakse müü, delta, gamma, alfa või epsilon geenidega ja saadud antikeha

15 isotüübiks on vastavalt IgM, IgD, IgG, IgA või IgE.

„Efektorfunktsiooni“ all mõeldakse käesolevas patendis biokeemilist sündmust, mis on põhjustatud antikeha Fc piirkonna interaktsioonist Fc retseptori või ligandiga. Efektorfunktsioonideks on Fc γ R-vahendatud efektorfunktsioonid nagu ADCC ja ADCP ning komplemendi vahendatud efektorfunktsioonid nagu CDC.

20 „Efektorraku“ all peetakse käesolevas patendis silmas immuunsüsteemi rakku, mis avaldab ühte või rohkemat Fc retseptorit ning vahendab ühte või rohkemat efektori funktsiooni. Efektorrakkude näideteks on monotsüüdid, makrofaagid, neutrofiilid, dendriitrakud, eosinofiilid, nuumrakud, vereliistakud, B-rakud, suured granulaarsed lümfotsüüdid, Langerhani rakud, loomulikud tapjarakud (NK) ja $\gamma\delta$ T-rakud ning

25 sellised rakud võivad pärineda mistahes organismist, näiteks inimestest, hiirtest, rottidest, küülikutest ja ahvidest.

„Fab“ või „Fab piirkond“ tähistab siin kasutatuna polüpeptiide, mis sisaldavad VH, CH1, VH ja CL immunoglobuliini domääne. Fab võib tähistada sellist piirkonda eraldatuna või täispika antikeha või antikeha fragmendi kontekstis.

30 „Fc“ või „Fc piirkond“ tähistab siin kasutatuna polüpeptiidi, mis sisaldab antikeha konstantset piirkonda, v.a esimest konstantse piirkonna immunoglobuliini domääni. Seega tähistab Fc IgA, IgD ja IgG viimast kahte konstantse piirkonna

immunoglobuliini domääni ja IgE ja IgM viimast kolme konstantse piirkonna immunoglobuliini domääni ning nende domäänide paindliku hinge-piirkonna N-otsa. IgA ja IgM korral võib Fc sisaldada J ahelat. IgG korral sisaldab Fc immunoglobuliini domääne Cgamma2 ja Cgamma3 (C γ 2 ja C γ 3) ning Cgamma1 (C γ 1) ja Cgamma2 (C γ 2) vahelist hinge-piirkonda. Kuigi Fc piirkonna piirid võivad erineda, loetakse inimese IgG raske ahela Fc piirkond sisaldavat tavaliselt jääke C226 või P230 oma karboksüül-otsas, kus nummerdus vastab Kabati EU indeksile. Fc võib tähistada sellist piirkonda eraldatuna või Fc polüpeptiidi nagu antikeha kontekstis. „Fc polüpeptiid“ tähistab siin kasutatuna polüpeptiidi, mis sisaldab kogu või osa Fc piirkonnast. Fc polüpeptiidideks on antikehad, Fc fusioonvalgud, eraldatud Fc ja Fc fragmendid.

„Fc gamma retseptori“ või „Fc γ R“ all peetakse silmas iga IgG antikeha Fc piirkonnaga seonduva valkude perekonna liiget. Erinevates teostustes on Fc γ R kodeeritud põhimõtteliselt Fc γ R geenidega. Inimestel kuuluvad sellesse perekonda näiteks Fc γ RI (CD64), k.a isovormid Fc γ RIa, Fc γ RIb ja Fc γ RIc; Fc γ RII (CD32), k.a isovormid Fc γ RIIa (k.a allotüübid H131 ja R131), Fc γ RIIb (k.a Fc γ RIIb-1 ja Fc γ RIIb-2) ning Fc γ RIIc; ja Fc γ RIII (CD16), k.a isovormid Fc γ RIIIa (k.a allotüübid V158 ja F158) ning Fc γ RIIIb (k.a allotüübid Fc- γ RIIIb-NA1 ja Fc γ RIIIb-NA2) (Jefferis *et al.*, 2002, *Immunol. Lett.* 82:57-65), nagu ka veel avastamata inimese Fc γ R-id või Fc γ R isovormid või allotüübid. Hiire Fc γ R-ide näideteks on Fc γ RI (CD64), Fc γ RII (CD32), Fc γ RIII (CD16) ja Fc γ RIII-2 (CD16-2), nagu ka veel avastamata hiire Fc γ R-i või Fc γ R isovormid või allotüübid. Fc γ R võib pärineda igalt organismilt, k.a inimestelt, hiirtelt, rottidelt, küülikutelt ja ahvidelt.

„Fc ligandi“ või „Fc retseptori“ all peetakse mistahes organismi molekuli ja eelistatult polüpeptiidi, mis seondub Fc-ligandi kompleksi moodustumiseks antikeha Fc piirkonnaga. Fc ligandite näideteks on Fc γ R-d, FcRn, C1q, C3, mannaani siduv lektiin, mannoosi retseptor, stafülokoki valk A, streptokoki valk G ja viiruse Fc γ R. Fc liganditeks on samuti Fc retseptori homoloogid (FcRH), mis on Fc γ R suhtes homoloogsete Fc retseptorite perekonnaks (Davis *et al.*, 2002, *Immunological Reviews* 190:123-136). Fc ligandid võivad hõlmata ka veel avastamata Fc siduvaid molekule.

„IgG“ on polüpeptiid, mis kuulub antikehade klassi, mille liikmeid kodeeritakse teadaoleva immunoglobuliini gamma geeniga. Inimestel kuuluvad sellesse klassi IgG1, IgG2, IgG3 ja IgG4. Hiirtel kuuluvad sellesse klassi IgG1, IgG2a, IgG2b ja IgG3. „Immunoglobuliin (Ig)“ on valk, mis koosneb ühest või rohkemast üldiselt immunoglobuliini geenide poolt kodeeritavast polüpeptiidist. Immunoglobuliinide näideteks on antikehad, olemata samas nendega piiratud. Immunoglobuliinid võivad omada mitmeid struktuurseid vorme, esinedes näiteks täispikkade antikehade, antikeha fragmentide ja individuaalsete immunoglobuliini domäänidena. „Immunoglobuliini (Ig) domääniks“ on käesolevas patendis immunoglobuliini piirkond, mis esineb valgu struktuuri asjatundja poolt eristatava struktuurse vormina. Ig domäänidel on tavaliselt iseloomulik β -mitmekihiline pakkimistopoloogia. IgG klassi antikehade teadaolevateks Ig domäänideks on VH, C γ 1, C γ 2, C γ 3, VL ja CL.

„Modifikatsiooni“ all peetakse käesolevas leiutises silmas valgu, polüpeptiidi, antikeha või immunoglobuliini füüsikaliste, keemiliste või järjestuse omaduste muutmist. Käesoleva leiutise eelistatud modifikatsioonideks on aminohappe modifikatsioonid ja glükovormi modifikatsioonid.

„Aminohappe modifikatsiooni“ all peetakse silmas aminohappe asendamist, sisestamist ja/või deletsiooni polüpeptiidi järjestuses. „Aminohappe asendus“ või „asendus“ tähistab ühe lähtepolüpeptiidi järjestuse konkreetsel positsioonil oleva aminohappe asendamist mõne muu aminohappega. Näiteks asendus I332E tähistab variantist polüpeptiidi ja antud juhul konstantse raske ahela varianti, kus positsioonil 332 olev isoleutsiin on asendatud glutaamhappega. MT jääk võib olla märgistatud või mitte. Eelpool mainitud näites tähistab 332E positsioonil 332 toimuvat asendust glutaamhappega. Käesoleva leiutise paremaks mõistmiseks on mitmekordsed asendused eraldatud tavaliselt kaldkriipsuga. Näiteks 239D/332E tähistab topeltvarianti, mis sisaldab asendusi 239D ja 332E. „Aminohappe sisestus“ või „sisestus“ tähistab ühe aminohappe lisamist lähtepolüpeptiidi järjestuse konkreetsel positsioonile. Näiteks sisestus -236 tähistab glütsiini sisestamist positsioonil 236. „Aminohappe deletsioon“ või „deletsioon“ tähistab ühe aminohappe eemaldamist lähtepolüpeptiidi järjestuse konkreetsel positsioonil. Näiteks G236- tähistab glütsiini kustutamist positsioonil 236.

„Glükovormi modifikatsioon“ või „modifitseeritud glükovorm“ või „muudetud glükovorm“ tähistab siin kasutatuna süsivesiku koostist, mis on kinnitatud kovalentselt valgu nagu antikehaga ja nimetatud süsivesiku koostis erineb keemiliselt lähtevalgu koostisest. Modifitseeritud glükovorm tähistab tavaliselt erinevat süsivesikut või oligosahhariidi; näiteks võib antikeha sisaldada modifitseeritud glükovormi. Alternatiivina võib modifitseeritud glükovorm tähistada antikeha, mis sisaldab erinevat süsivesikut või oligosahhariidi.

„Lähtepolüpeptiid“, „lähtevalk“, „eellaspolüpeptiid“ või „eellasvalk“ tähistab siin kasutatuna modifitseerimata polüpeptiidi, mida on variandi loomiseks põhimõtteliselt modifitseeritud. Nimetatud lähtepolüpeptiidiks võib olla looduslikult esinev polüpeptiid või looduslikult esineva polüpeptiidi muudetud versioon või variant. Lähtepolüpeptiid võib tähistada polüpeptiidi ennast, lähtepolüpeptiidi sisaldavaid koostisi või seda kodeerivat aminohappejärjestust. Seega tähistab „lähteantikeha“ või „lähteimmunoglobuliin“ siin kasutatuna antikeha või immunoglobuliini, mida on variandi saamiseks modifitseeritud. „Lähte-anti-CD19 antikeha“ või „lähte-anti-CD19 immunoglobuliin“ tähistab siin kasutatuna antikeha või immunoglobuliini, mis seob CD19 ja mida on variandi saamiseks modifitseeritud.

„Valk“ või „polüpeptiid“ tähendab siin kasutatuna vähemalt kahte kovalentselt kinnitatud aminohapet, näiteks valke, polüpeptiide, oligopeptiide ja peptiide. Valk võib olla valmistatud looduslikult esinevatest aminohapetest ja peptiidsidemetest või sünteetilisest peptidomimeetilisest struktuuridest ehk "analoogidest" nagu peptoididest.

„Positsioon“ tähistab siin kasutatuna asukohta valgu järjestuses. Positsioonid võivad olla nummerdatud üksteisele järgnevalt või vastavalt loodud vormile, näiteks Kabati kirjeldatud EU indeksile. Vastavad positsioonid määratakse vastavalt siin avaldatule ning üldiselt läbi järjestuse muude lähtejärjestustega.

„Jääk“ tähendab siin kasutatuna positsiooni valgus ja sellega seonduvas aminohappes. Näiteks asparagiin 297 (teada ka kui Asn297 ja N297) on jääk inimese antikeha IgG1 positsioonil 297.

„Märklaud-antigeen“ või „märklaud“ või „antigeen“ tähendab siin kasutatuna molekuli, mis on seotud spetsiifiliselt antud antikeha muutuva piirkonnaga. Märklaud-antigeeniks võib olla valk, süsivesik, lipiid või muu keemiline ühend. „Märklaud-rakk“ tähendab siin kasutatuna rakku, mis märklaud-antigeeni avaldab.

- 5 „Varieeruv piirkond“ tähistab antikeha raske ahela või kerge ahela varieeruvat piirkonda. Raske ahela varieeruv piirkond (VH) tähistab siin kasutatuna VH domääni N-otsa ja C-otsa vahelist piirkonda, hõlmates Kabati nummerduskonventsiooni alusel jääke 1-113. Kerge ahela varieeruv piirkond (VL) tähistab siin kasutatuna VL domääni N-otsa ja C-otsa vahelist piirkonda, hõlmates
- 10 Kabati nummerduskonventsiooni alusel jääke 1-107. Eriala asjatundjad mõistavad, et Kabati varieeruva piirkonna nummerduses kasutatakse CDR-ide erineva pikkuse näitamiseks tähti. See, et VH on Kabati jäägid 1-113 ja VL on Kabati jäägi 1-107, ei tähenda ilmtingimata, et VH domään sisaldaks täpselt 113 jääki või VL sisaldaks täpselt 107 jääki. Pigem hõlmavad Kabati VH jäägid 1-113 ja VL jäägid
- 15 1-107 struktuurseid domääne, mis määrati suure hulga erineva pikkuse antikeha erineva pikkusega varieeruvate piirkondade järjestuste määramisega ((Kabat *et al.*, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, V trükk, United States Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, USA). Mõningates teostustes võib varieeruv piirkond sisaldada ühte või rohkemat Ig domääni, mida
- 20 kodeeritakse mistahes $V\kappa$, $V\lambda$ ja/või VH geeniga, mis moodustavad vastavalt kappa, lambda ja raske ahela immunoglobuliini geneetilise lookuse.

- „Variantvalk“, „valgu variant“, „variantpolüpeptiid“ või „polüpeptiidi variant“ tähistab siin kasutatuna polüpeptiidjärjestust, mis erineb lähtepolüpeptiidi järjestusest vähemalt ühe aminohappe modifikatsiooni alusel. Variantpolüpeptiid võib tähistada
- 25 polüpeptiidi ennast, polüpeptiidi sisaldavat koostist või seda kodeerivat aminohappejärjestust. Eelistatult on variantpolüpeptiidil võrreldes lähtepolüpeptiidiga vähemalt üks aminohappemodifikatsioon, näiteks umbes üks kuni umbes kümme aminohappemodifikatsiooni ja eelistatult umbes üks kuni umbes viis aminohappemodifikatsiooni. Siin avaldatud variandist
- 30 polüpeptiidjärjestusel on lähtepolüpeptiidi järjestusega vähemalt 80% homoloogia, eelistatumalt vähemalt umbes 90% homoloogia ja kõige eelistatumalt vähemalt umbes 95% homoloogia. Seega tähendab „variantantikeha või „antikeha variant“

siin kasutatuna antikeha järjestust, mis erineb lähteantikeha järjestusest vähemalt ühe aminohappe modifikatsiooni alusel. Antikeha variandiks võib olla antikeha polüpeptiid ise, antikeha variandi polüpeptiidi sisaldavad koostised või antikeha kodeeriv aminohappejärjestus. Seega tähendab „variantantikeha“ või „antikeha variant“ siin kasutatuna eelpool defineeritud antikeha, mis erineb lähteantikeha järjestusest vähemalt ühe aminohappe modifikatsiooni alusel. Variantantikehaks võib olla valk ise, seda valku sisaldavad koostised või seda kodeeriv aminohappejärjestus. Seega tähistab „konstantse raske ahela variant“ või „konstantse kerge ahela variant“ või „Fc variant“ siin kasutatuna vastavalt konstantset rasket ahelat, konstantset kerget ahelat või Fc piirkonna polüpeptiidi või järjestust, mis erineb lähtejärjestusest vähemalt ühe aminohappe modifikatsiooni alusel.

„Metsiktüüp või MT“ tähistab aminohappejärjestust või nukleotiidjärjestust, mis on looduslikult esinev, k.a alleelseid variatsioone. MT valk, polüpeptiid, antikeha, immunoglobuliin, IgG jne omab aminohappejärjestust või nukleotiidjärjestust, mida ei ole tahtlikult muudetud.

Kõikide käesolevas leiutises avaldatud immunoglobuliini raske ahela konstantse piirkonna positsioonide nummerdus vastab Kabati EU indeksile (Kabat *et al.*, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, V trükk, United States Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, USA). „Kabati EU indeks“ tähistab inimese IgG1 EU antikeha jääkide nummerdust, mida on kirjeldanud Edelman *et al.*, 1969, Biochemistry 63: 78-85.

Antikehad

Siin kasutatuna tähistab mõiste „antikeha“ monomeerset või multimeerset valku, mis sisaldab ühte või rohkemat polüpeptiidahelat. Antikeha seondub spetsiifiliselt antigeeniga (näiteks CD19) ja võib olla võimeline antigeeni bioloogilise aktiivsuse moduleerimiseks. Siin kasutatuna võib mõiste „antikeha“ hõlmata nii „täispikka antikeha“ kui ka „Fc polüpeptiidi“:

„Täispikk antikeha“ tähistab struktuuri, mis koosneb antikeha looduslikust bioloogilisest vormist, k.a varieeruvatest ja konstantsetest piirkondadest. Näiteks

enamustel imetajatel, k.a inimestel ja hiirtel, on IgG klassi täispikk antikeha tetrameer ja koosneb kahe immunoglobuliini ahela kahest identsest paarist ja igas paaris asub üks kerge ja üks raske ahel ning iga kerge ahel sisaldab immunoglobuliini domääne VL ja CL ning iga raske ahel sisaldab immunoglobuliini domääne VH, CH1 (C γ 1), CH2 (C γ 2) ja CH3 (C γ 3). Mõningatel imetajatel nagu kaamelitel ja laamadadel võib IgG antikeha koosneda ainult kahest raskest ahelast, kus iga raske ahel sisaldab Fc piirkonna külge kinnitatud varieeruvat domääni.

Mõiste „antikeha“ hõlmab ka antikeha fragmente. Iseloomulike antikeha fragmentide näideteks on (i) Fab fragment, mis koosneb VL VH, CL ja CH1 domäänidest; (ii) Fd fragment, mis koosneb VH ja CH1 domäänidest; (iii) Fv fragment, mis koosneb üksiku antikeha VL ja VH domäänidest; (iv) dAb fragment (Ward *et al.*, 1989, Nature 341: 544-546), mis koosneb üksikust muutujast; (v) eraldatud CDR-i piirkonnad; (vi) F(ab')₂ fragmendid, mille näol on tegemist kahest aheldatud Fab fragmendist koosnevate bivalentsete fragmentidega; (vii) üksiku ahela Fv molekulid (scFv), kus VH domään ja VL domään on aheldatud peptiidlinkeriga, mis võimaldab kahe domääni liitumist antigeeni siduva piirkonna moodustamiseks (Bird *et al.*, 1988, Science 242: 423-426, Huston *et al.*, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883); (viii) bispetsiifilised üksiku ahela Fv dimeerid (PCT WO 1993/011161); ja (ix) "diakehad" või "triakehad", mis on multivalentsete või multispetsiifilised geenifusiooniga valmistatud fragmendid (Tomlinson *et al.*, 2000, Methods Enzymol. 326:461-479; WO 94/13804; Holliger *et al.*, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448). Mõningates teostustes valmistatakse antikehad rekombinantse DNA tehnikatega. Muid antikeha vormide ja arhitektuuride näiteid on kirjeldatud Holliger & Hudson, 2006, Nature Biotechnology 23(9): 1126-1136, ja Carter 2006, Nature Reviews Immunology 6: 343-357, ning seal loetletud kirjanduse allikates. Täiendavates teostustes valmistatakse antikehad looduslikult esinevate antikehad ensümaatilise või keemilise lõhestamisega.

Looduslikult esineva antikeha struktuursed üksused sisaldavad tavaliselt tetrameeri. Iga tetrameer koosneb tavalisest kahest identsest polüpeptiidahelate paarist ja igal paaril on üks „kerge“ (umbes 25 kDa molekulmassiga) ja üks "raske" (umbes 50-70 kDa molekulmassiga) ahel. Iga kerge ja raske ahel on valmistatud

kahest erinevast piirkonnast, mida kutsutakse varieeruvateks ja konstantseteks piirkondadeks. Immunoglobuliinide IgG klassi korral koosneb raske ahel neljast immunoglobuliini domäänist, mis on aheldatud N- või C-otsast järjestusega VH-CH1-CH2-CH3, milleks on vastavalt raske ahela varieeruv domään, raske ahela konstantne domään 1, raske ahela konstantne domään 2 ja raske ahela konstantne domään 3 (tähistatud mõnikord ka kui VH-C γ 1-C γ 2-C γ 3, mis tähistab vastavalt raske ahela varieeruvat domääni, konstantset gamma 1 domääni, konstantset gamma 2 domääni ja konstantset gamma 3 domääni). IgG kerge ahel koosneb kahest immunoglobuliini domäänist, mis on aheldatud N-otsast C-otsa suunas järjestusega VL-CL, mis kujutab endast vastavalt kerge ahela varieeruvat domääni ja kerge ahela konstantset domääni. Konstantsed piirkonnad näitavad järjestuse väiksemaid erinevusi ning vastutavad erinevate looduslikult esinevate valkude sidumise eest oluliste biokeemiliste sündmuste hõlbustamiseks.

Antikeha varieeruv piirkond sisaldab molekuli antigeeni sidumise määrajaid ning määrab seega antikeha spetsiifilisuse märklaud-antigeeni suhtes. Varieeruv piirkond on saanud oma nime, kuna selle piirkonna järjestus erineb muude sama klassi antikehade järjestusest kõige rohkem. Varieeruv piirkonnas on iga raske ahela ja kerge ahela V domääni jaoks kogutud kolm aasa, mis moodustavad antigeeni siduva piirkonna. Iga sellist aasa kutsutakse komplementaarsust määravaks piirkonnaks (tähistatud alljärgnevalt kui „CDR“), kus aminohappejärjestuse variatsioon on kõige märkimisväärsem. Kokku esineb 6 CDR-i (kolm raskes ja kolm kerges ahelas), mis on tähistatud kui VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 ja VL CDR3. CDR-idest väljaspool asuvad varieeruva piirkonna osa kutsutakse raami (FR) piirkonnaks. Kuigi FR piirkonnas esinev erinevate antikehade järjestuste varieeruvus ei ole nii ulatuslik kui CDR-is, on see siiski olemas. Kokkuvõtvalt kujutab see antikehade iseloomulik struktuur stabiilset platvormi (FR piirkonda), mille põhjal suudab immuunsüsteem põhimõttelist antigeeni sidumise ulatust (CDR-e) analüüsida ja seeläbi paljude antikehade vastase spetsiifilisuse tekitada. Kasutada saab mitmeid suure resolutsiooniga struktuure, mis sobivad kasutamiseks erinevate organismide erinevate varieeruva piirkonna fragmentidega, millest mõned on seondumata ja mõned on kompleksis antigeeniga. Antikeha varieeruvate piirkondade järjestuse ja struktuuri omadused on avaldanud näiteks Morea *et al.*, 1997, *Biophys. Chem.* 68:

9-16; Morea *et al.*, 2000, *Methods* 20: 267-279 ning antikehade konserveeritud omadused on avaldanud näiteks Maynard *et al.*, 2000, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2: 339-376.

Antikehad on rühmitatud konstantse piirkonna geneetika alusel klassidesse ehk isotüüpidesse. Inimese konstantsed kerged ahelad on klassifitseeritud kui kappa (Cκ) ja lambda (Cλ) kerged ahelad. Rasked ahelad on klassifitseeritud kui müü, delta, gamma, alfa või epsilon, mis omakorda määratlevad vastavalt immunoglobuliini klassid IgM, IgD, IgG, IgA ja IgE. Terapeutilistel eesmärkidel kasutatakse kõige sagedamini IgG klassi. Inimestel kuuluvad sellesse klassi alamklassid IgG1, IgG2, IgG3 ja IgG4. Hiirtel kuuluvad sellesse klassi alamklassid IgG1, IgG2a, IgG2b ja IgG3. IgM omab samuti alamklasse, mille näideteks on IgM1 ja IgM2. Ka IgA omab mitmeid alamklasse, mille näideteks on IgA1 ja IgA2. Seega „isotüüp“ tähistab siin kasutatuna iga immunoglobuliinide klassi või alamklassi, mis on defineeritud nende konstantsete piirkondade keemiliste ja antigeensete omadustega. Teadaolevateks inimese immunoglobuliini isotüüpideks on IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgM1, IgM2, IgD ja IgE. Joonisel Fig 2 on avaldatud inimese kerge ahela kappa ja raske ahela gamma konstantsete piirkondade järjestused. Joonisel Fig 3 on kujutatud inimese IgG konstantse piirkonna raskete ahelate järjestust.

Kasulikuks võivad osutada ka IgG-d, mis on looduslikult leiduvate inimese IgG isotüüpide hübriidkoostised. Erinevate antikeha klasside, k.a inimese IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE, IgG ja IgG efektorfunktsioonid nagu ADCC, ADCP, CDC ja poolestusaeg seerumis erinevad märkimisväärselt (Michaelson *et al.*, 1992, *Molecular Immunology*, 29(3): 319-326). IgG1, IgG2, IgG3 ja IgG4 variante on analüüsitud mitmes uuringus, mille käigus üritati määrata nende vaheliste efektorfunktsiooni erinevuste põhjuseid. Lisateabe saamiseks vaadake Canfield & Morrison, 1991, *J. Exp. Med.* 173: 1483-1491; Chappel *et al.*, 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88(20): 9036-9040; Chappel *et al.*, 1993, *Journal of Biological Chemistry* 268: 25124-25131; Tao *et al.*, 1991, *J. Exp. Med.* 173: 1025-1028; Tao *et al.*, 1993, *J. Exp. Med.* 178: 661-667; Redpath *et al.*, 1998, *Human Immunology*, 59, 720-727.

USA patendis 2006/0134105, mis esitati 21. oktoobril 2005 ja kannab pealkirja "IgG Immunoglobulin Variants with Optimized Effector Function", avaldatu alusel on võimalik luua muude immunoglobuliini klasside konstantseid piirkondasid sisaldavas antikehas aminohappe modifikatsioone (vt. joonist Fig 3). Sellised

5 geneetiliselt muudetud hübriidsed IgG koostised võivad tekitada paranenud efektorfunktsiooni omadusi, k.a parema ADCC, fagotsütoosi, CDC-d ja/või poolestusaja seerumis. Joonisel Fig 3 kujutatu alusel võib IgG1/IgG3 hübriidvariandi valmistada, asendades CH2 ja CH3 piirkonna IgG1 positsioonid IgG3 aminohapetega positsioonidel, kus kaks isotüüpi erinevad. Seeläbi saab

10 valmistada hübriidse IgG variantantikeha, mis sisaldab ühte või rohkemat järgnevast rühmast valitud asendust: 274Q, 276K, 300F, 339T, 356E, 358M, 384S, 392N, 397M, 422I, 435R ja 436F, kus nummerdus vastab EU indeksile. Sellisel variandil võivad olla alternatiivsed ja/või paremad efektorfunktsiooni omadused.

15 Ühes muus näites võib IgG2 suhteliselt nõrka efektorfunktsiooni parandada, asendades olulised FcγR sidumisjäädid IgG-s vastavate parema efektofunktsiooniga aminohapetega. Mis puudutab FcγR sidumist, siis võivad IgG2 ja IgG1 vahelisteks olulisteks jääkide erinevusteks olla P233, V234, A235, -236 (tähistab IgG2 aset leidvat deletsiooni võrreldes IgG1) ja G327. Seega võib

20 efektorfunktsiooni parandada läbi ühe või rohkema aminohappe modifikatsiooni eellasest IgG2-s, kus üks või rohkem nendest jääkidest asendatakse vastavate IgG1 aminohapetega P233, V234, A235, -236G (tähistab glütsiini sisestust positsioonile 236) ja G327. Selline IgG järjestus, mis sisaldab IgG1 ja IgG2 jääkide hübriidi, mida näidetes ja joonistel nimetatakse „hübriidiks“, on avaldatud joonisel

25 Fig 2.

Teadu on, et inimestel esineb immunoglobuliini polümorfisme. Gm polümorfism määratakse IgHG1, IgHG2 ja IgHG3 geenidega, mille alleelid kodeerivad allotüüpseid antigeensuse määrajaid G1m, G2m ja G3m allotüüpidele inimese IgG1, IgG2 ja IgG3 molekulide märgistes (gamma 4 ahela jaoks ei ole Gm

30 allotüüpe leitud). Märgised on klassifitseeritud allotüüpideks ja isoallotüüpideks. Neid eristatakse erinevate seroloogiliste aluste alusel sõltuvalt tugevatest järjestuste homoloogiast isotüüpide vahel. Allotüübid on antigeensuse määrajad,

mis määratakse Ig geenide alleelsete vormidega. Allotüübid kujutavad väheolulisi erinevusi erinevate isikute raskete või kergete ahelate aminohappejärjestuste vahel. Isegi ühe aminohappe erinevus võib tekitada allotüübi määraja, kuigi paljudel juhtudel on esindatud mitmed aminohappe asendused. Allotüübid on järjestuse erinevused alamklassi alleelide vahel, kus antiseerum tuvastab ainult alleelide erinevused. Isoallotüüp on ühes isotüübis olev alleel, mis loob epitoobi, mida jagatakse ühe või rohkema muu isotüübi mittepölmorfse homologse piirkonnaga ja seetõttu reageerib see antiseerum nii vastavate allotüüpide kui ka vastavate homologsete isotüüpidega (Clark, 1997, IgG effector mechanisms, Chem Immunol. 65: 88-110; Gorman & Clark, 1990, Semin. Immunol. 2(6): 457-66).

Inimese immunoglobuliinide alleelseid vorme on põhjalikult iseloomustatud (WHO Review of the notation for the allotypic and related markers of human immunoglobulins. J. Immunogen. 1976, 3: 357-362; WHO Review of the notation for the allotypic and related markers of human immunoglobulins. 1976, Eur. J. Immunol. 6, 599-601; E. van Loghem, 1986, Allotypic markers, Monogr. Allergy 19: 40-51). Lisaks on iseloomustatud ka muid polümorfisme (Kim *et al.*, 2001, J. Mol. Evol. 54:1-9). Hetkeseisuga on teada 18 Gm allotüüpi: G1m (1, 2, 3, 17) või G1m (a, x, f, z), G2m (23) või G2m (n), G3m (5, 6, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 21, 24, 26, 27, 28) või G3m (b1, c3, b5, b0, b3, b4, s, t, gl, c5, u, v, g5) (Lefranc *et al.*, The human IgG subclasses: molecular analysis of structure, function and regulation. Pergamon, Oxford, lk 43-78 (1990); Lefranc, G. *et al.*, 1979, Hum. Genet.: 50, 199-211). Fikseeritud kombinatsioonidena päritud allotüüpe kutsutakse Gm haplotüüpideks. Joonisel Fig 4 on kujutatud inimese IgG1 (joonis Fig 4a) ja IgG2 (joonis Fig 4b) gamma ahela levinud haplotüüpe ning nende vastavaid aminohappeasendusi ja positsioone. Nende IgG1 ja IgG2 allotüüpsete versioonide aminohappejärjestusi on kujutatud kui SEQ ID NO: 80-85. Käesoleva leiutise antikehasid võidakse kodeerida põhimõtteliselt iga immunoglobuliini geeni mistahes allotüübi, isoallotüübi või haplotüübiga.

Inimese immunoglobuliinide alleelseid vorme on põhjalikult iseloomustatud (WHO Review of the notation for the allotypic and related markers of human immunoglobulins. J Immunogen 1976, 3: 357-362; WHO Review of the notation for

the allotypic and related markers of human immunoglobulins. 1976, Eur. J. Immunol. 6, 599-601; E. van Loghem, 1986, Allotypic markers, Monogr. Allergy 19: 40-51). Lisaks on iseloomustatud ka muid polümorfisme (Kim *et al.*, 2001, J. Mol. Evol. 54:1-9). Hetkeseisuga on teada 18 Gm allotüüpi: G1m (1,2, 2, 3, 17) või
5 G1m (a, x, f, z), G2m (23) või G2m (n), G3m (5, 6, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 21, 24, 26, 27, 28) või G3m (b1, c3, b5, b0, b3, b4, s, t, gl, c5, u, v, g5) (Lefranc *et al.*, The human IgG subclasses: molecular analysis of structure, function and regulation. Pergamon, Oxford, lk 43-78 (1990); Lefranc, G. *et al.*, 1979, Hum. Genet.: 50, 199-211). Fikseeritud kombinatsioonidena päritud allotüüpe kutsutakse Gm haplotüüpideks. Joonisel Fig 4 on kujutatud inimese IgG1 (joonis Fig 4a) ja IgG2 (joonis Fig 4b) gamma ahela levinud haplotüüpe ning nende vastavaid aminohappeasendusi ja positsioone. Käesoleva leiutise antikehasid võidakse kodeerida põhimõtteliselt iga immunoglobuliini geeni mistahes teletüübi, isoallotüübi või haplotüübiga.

15 Käesoleva leiutise antikehasid võidakse kodeerida mistahes organismist pärinevate geenidega, kuid eelistatult pärinevad geenid imetajatelt nagu inimestelt, närilistelt (näiteks hiirtelt ja rottidelt), jäneselilt (näiteks küülikutelt või jänestelt), kaamelilistelt (näiteks kaamelilt, laamadelt ja dromedaridelt) ning primaatidelt nagu lemurilistelt, uue maailma ahvidelt, vana maailma ahvidelt ja hominoididelt,
20 näiteks gibonitelt ja inimahvidelt. Kõige eelistatumas teostuses pärinevad käesoleva leiutise antikehad peamiselt inimeselt. Käesoleva leiutise antikehasid võidakse kodeerida põhimõtteliselt igasse antikeha klassi kuuluva immunoglobuliini geeniga. Kõige eelistatumas teostuses sisaldavad käesoleva leiutise antikehad järjestusi, mis kuuluvad antikehade IgG klassi, k.a inimeste alamklassidesse IgG1, IgG2, IgG3 ja IgG4. Ühes alternatiivses teostuses sisaldavad käesoleva leiutise antikehad järjestusi, mis kuuluvad antikehade IgA (k.a inimese alamklassidesse IgA1 ja IgA2), IgD, IgE, IgG või IgM klassidesse. Käesoleva leiutise antikehad võivad sisaldada rohkem kui ühte valguahelat. See tähendab, et käesolev leiutis võib kujutada endast antikeha, mis on monomeer või
30 oligomeer, k.a homo- või hetero-oligomeer.

Kõige eelistatumates teostustes põhinevad käesoleva leiutise antikehad inimese IgG järjestustel ning seega kasutatakse inimese IgG järjestusi muude järjestustega

võrdlemisel „alusjärjestustena“ ning muud järjestused võivad pärineda nii muudelt organismidelt nagu närilistelt või primaatidelt, nagu ka muudest immunoglobuliini klassidest, näiteks IgA, IgE, IgGd, IgGM jne. Kuigi käesoleva leiutise antikehad on valmistatud ühe lähteantikeha kontekstis, võib antikeha variandid valmistada või

5 "siirdada" mõne muu täiendava lähteantikeha konteksti. See sooritatakse läbi „samaväärsete“ või "vastavate“ jääkide ning asenduste määramise esimese ja teise antikeha vahel, tuginedes tavaliselt kahe antikeha järjestuste järjestatuse või struktuuri homoloogia. Homoloogia tekitamiseks võrreldakse siin väljatoodud esimese antikeha aminohappejärjestust otse teise antikeha järjestusega. Pärast

10 järjestuste reastamist ühte või rohkemat teadaolevat homoloogia järjestusprogrammi kasutades (rakendades näiteks liikide vahelisi konserveeritud jääke) ja võimaldades järjestuse säilitamiseks vajalikke sisestusi ja deletsioone (ehk vältides konserveeritud jääkide kõrvaldamist läbi suvaliste deletsioonide ja sisestuste), määratakse jäägid, mis vastavad esimese antikeha primaarse

15 järjestuse konkreetsetele aminohapetele. Konserveeritud jääkide reastus peaks säilitama eelistatult 100% sellistest jääkidest. Kuid samaväärsete jääkide määramiseks piisab samuti 75% või kuni 50% konserveeritud jääkidest. Samaväärsed jäägid võib määrata ka läbi struktuurse homoloogia määramise esimese ja teise antikeha vahel, mis esineb määratud struktuuridega antikehade

20 tertsiaarse struktuuri tasemel. Sellisel juhul defineeritakse samaväärsed jäägid kui jäägid, mille lähte- või eellasühendi konkreetse aminohappejärgi kahe või rohkema peaahela aatomi koordinaadid (N N-il, CA CA-I, C C-I ja O O-I) asuvad pärast reastamist 0,13 nm ja eelistatult 0,1 nm piires. Reastamine saavutatakse pärast parima mudeli orienteerimist ja positsioneerimist valkude vesinikust

25 erinevate aatomite koordinaatide maksimaalse kattumise tekitamiseks. Hoolimata samaväärsete või vastavate jääkide määramismeetodist ja hoolimata lähteantikeha, kus antikehad valmistatakse, olemusest peetakse silmas, et käesoleva leiutise väljatöötamisel avastatud antikehad võib viia mistahes teise lähteantikehasse, millel on nimetatud esimese antikehaga märkimisväärne

30 järjestuse või struktuuri homoloogia. Seega juhul, kui eelpool kirjeldatud või muid samaväärsete jääkide määramiseks kasutatavaid meetodeid kasutades luuakse variantantikeha, mille lähteantikehaks on inimese IgG1, võib nimetatud variantantikeha muuta samuti inimese IgG2 lähteantikehas, inimese IgA

lähteantikehas, Hiire IgG2a või IgG2b lähteantikehas jne. Vastavalt eelpool kirjeldatule ei mõjuta lähteantikeha olemus võimet käesoleva leiutise antikehasid muudesse lähteantikehadesse viia. Näiteks variantantikehad, mis on valmistatud inimese IgG1 antikehas, mis on suunatud ühele antigeeni epitoobile, võib viia
5 inimese IgG2 antikehasse, mis on suunatud mõnele muule antigeeni epitoobile jne.

Immunoglobuliinide IgG klassis on raske ahelas mitu immunoglobuliini domääni. „Immunoglobuliini (Ig) domääni“ all peetakse silmas immunoglobuliini piirkonda, millel on eristuv tertsiaarne struktuur. Käesolevas leiutises pakuvad huvi
10 konstantse raske ahela domäänid, k.a konstantse raske (CH) ahela domäänid ja hinge-piirkond. IgG antikehade kontekstis on igal IgG isotüübil kolm CH piirkonda: „CH1“ tähistab positsioone 118-220, „CH2“ tähistab positsioone 237-340 ja „CH3“ tähistab positsioone 341-447 (Kabati EU indeksi alusel). „Hinge“ või „hinge-piirkonna“ või „antikeha hinge-piirkonna“ või „immunoglobuliini hinge-piirkonna“ all
15 peetakse silmas paindlikku polüpeptiidi, mis sisaldab antikeha esimese ja teise konstantse piirkonna vahel aminohappeid. Struktuurselt lõppeb IgG CH1 domään EU positsioonil 220 ja IgG CH2 domään algab EU jäägi positsioonil 237. Seega IgG korral hõlmab hinge-piirkond positsioone 221 (D221 IgG1-s) kuni 236 (G236 IgG1-s) (nummerdus vastab Kabati EU indeksile). Mõningates teostustes, näiteks
20 Fc piirkonna kontekstis, on kaasatud ka madalam hinge-piirkond, mis tähistab üldiselt positsioone 226 või 230. Siin defineeritud konstantne raske ahel tähistab piirkonda CH1 domääni N-otsast CH3 domääni C-otsani, hõlmates seega positsioone 118-447 (nummerdus vastab EU indeksile). Konstantse piirkonna kerge ahel sisaldab üksikut domääni ja tähistab siin defineerituna C_k või C_λ
25 positsioone 108-214, kus nummerdus vastab EU indeksile.

Käesoleva leiutise antikehad võivad hõlmata ka multispetsiifilisi antikehasid ehk bispetsiifilisi antikehasid, mida kutsutakse mõnikord ka diakehadeks. Tegemist on antikehadega, mis seonduvad kahe (või rohkema) erineva antigeeniga. Diakehasid võib valmistada erinevate teadaolevate meetoditega, näiteks
30 keemiliselt või hübriidide hübriidoomidest. Ühes käesoleva leiutise teostuses on antikehaks minikeha. Minikehad on minimeeritud antikeha sarnased valgud, mis sisaldavad CH3 domääniga liitunud scFv. Mõningatel juhtudel võib scFv olla

liitunud Fc piirkonnaga ja sisaldada mõningal määral või kogu hinge-piirkonda. Multispetsiifilisi antikehasid on kirjeldatud Holliger & Hudson, 2006, Nature Biotechnology 23(9): 1126-1136 ja seal avaldatud kirjandusallikates.

Siin kirjeldatud antikehaks võib olla antikeha variant. Erilist huvi pakuvad antikehad, mis sisaldavad Fc piirkondi, Fc fusioone ja raske ahela konstantset piirkonda (CH1-hing-CH2-CH3). Nimetatud antikehad võivad sisaldada Fc fragmente. Käesoleva leiutise Fc fragment võib sisaldada 1-90% Fc piirkonnast ja eelistatult 10-90% ja kõige eelistatumalt 30-90%. Seega võib Fc fragment sisaldada näiteks IgG1 C_γ2 domääni, IgG1 C_γ2 domääni ja hinge-piirkonda, IgG1 C_γ3 domääni jne. Ühes käesoleva leiutise teostuses sisaldab Fc fragment lisaks fusioonipartnerit, mis muudab selle efektiivselt Fc fragmendi fusiooniks. Fc fragmendid võivad, kuid ei pruugi, sisaldada täiendavat polüpeptiidjärjestust.

Kimäärsed, humaniseeritud ja täielikult inimpäritoluga antikehad

Immunogeensus on võõrkehaks loetava aine vastu tekitatud keeruliste reageeringute seeriade tulemus, mis võib hõlmata neutraliseerivate ja mitteneutraliseerivate antikehade loomist, immuunkomplekside moodustamist, komplemendi aktiveerimist, nuumrakkude aktiveerimist, põletikku, ülitundlikkuse reageeringuid ja anafülaksiat. Valgu immunogeensusust võivad soodustada mitmed faktorid, k.a valgu järjestus, manustamisviis ja -sagedus ning patsient. Immunogeensus võib piirata valgu efektiivsust ja ohutut kasutamist mitmel viisil. Neutraliseerivate antikehade moodustamine võib efektiivsust otseselt vähendada. Efektiivsus võib väheneda ka kaudselt, kuna seondumine neutraliseerivate või mitteneutraliseerivate antikehadega põhjustab tavaliselt kiire kadumise seerumist. Immuunvastuse tekkimisel võib esineda raskekujulisi kõrvaltoimeid või isegi surmajuhtumeid. Seega võib käesoleva leiutise antikehade immunogeensususe vähendamiseks kasutada valkude muutmist.

Mõningates teostustes võib aluskomponentidena kasutada erinevate liikide segu. Selliseks antikehaks võib olla kimäärne antikeha ja/või humaniseeritud antikeha. Nii „kimäärsed antikehad“ kui ka „humaniseeritud antikehad“ tähistavad üldiselt antikehasid, mis hõlmavad rohkem kui ühe liigi piirkondi. „Kimäärsed antikehad“ sisaldavad traditsiooniliselt hiire (või mõningatel juhtudel roti) varieeruvat piirkonda

ja inimese konstantset piirkonda (Morrison *et al.*, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855).

„Humaniseeritud“ antikehaks on antikeha, mis koosneb inimese raami piirkonnast (FR) ja ühest või rohkemast muu liigi (tavaliselt hiire või roti) antikeha
5 komplementaarsust määravast piirkonnast (CDR-ist). Muu liigi CDR-e annetav antikeha on teada kui "doonor" ja raami moodustav inimese immunoglobuliin on "aktseptor". Teatud teostustes põhineb humaniseerimine peamiselt doonori CDR-ide siirdamisel aktseptori (inimese) VL ja VH raamidesse (Winter, USA patent nr 5 225 539). Seda strateegiat kutsutakse „CDR-i siirdamiseks“. Algse siirdatud
10 konstruktsiooni juures sageli kaduva afiinsuse taastamiseks on tavaliselt vajalik valitud aktseptori raami jääkide "tagasimutatsioon" vastavateks doonori jääkideks (USA patent nr 5 693 762). Humaniseeritud antikeha sisaldab valikuliselt ka vähemalt osa immunoglobuliini konstantsest piirkonnast, milleks on tavaliselt inimese immunoglobuliin, ja sisaldab seega tavaliselt ka inimese Fc piirkonda.
15 Praktikas on teada mitmed tehnikad ja meetodid inimesest erinevate liikide antikehade humaniseerimiseks ja ümbervormimiseks (vaadake näiteks Tsurushita & Vasquez, 2004, Humanization of Monoclonal Antibodies, Molecular Biology of B Cells, 533-545, Elsevier Science (USA) ja seal loetletud kirjanduse allikaid). Humaniseerimine ja muud inimeselt mittepärineva antikeha muutuvate piirkondade
20 immunogeensuse alandamise meetodid võivad hõlmata ka pinna uuesti katmise meetodeid, mida on kirjeldanud näiteks Roguska *et al.*, 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 969-973. Antikeha varieeruvate piirkondade humaniseerimiseks ja/või afiinsusküpsemiseks (varieeruva piirkonna afiinsuse suurendamiseks märklaudantigeeni suhtes) võib kasutada ka selektsioonipõhiseid meetodeid.
25 Muud humaniseerimise meetodid võivad hõlmata CDR-ide osade siirdamist ja selliste meetodite näiteid on kirjeldatud USA patendis nr 2002/0034765; Tan *et al.*, 2002, J. Immunol. 169: 1119-1125; De Pascalis *et al.*, 2002, J. Immunol. 169: 3076-3084. Humaniseerimiseks ja afiinsusküpsemiseks võib kasutada struktuuripõhiseid meetodeid, mida on kirjeldatud näiteks USA patendis nr
30 2002/0177170 ja seonduvates patenditaotlustes.

Teatud variatsioonides vähendatakse leiutise antikeha immunogeensust meetodiga, mida on kirjeldatud USA patendis nr 2006/0008883, mis kannab

pealkirja "Methods of Generating Variant Proteins with Increased Host String Content and Compositions Thereof" ja esitati 3. detsembril 2004.

Modifikatsioonid immnogeensuse vähendamiseks võivad hõlmata modifikatsioone, mis vähendavad lähtejärjestusest deriveeritud töödeldud peptiidide seondumist MHC valkudega. Näiteks plaanitakse aminohappemodifikatsioonid nii, et eeldatavasti mistahes valitseva MHC alleeliga suure afiinsusega seonduvate immuunsuse epitoopide arv oleks minimaalne või puuduks need üldse. Teada on mitmed meetodid valgu järjestuses MHC siduvate epitoopide määramiseks ja neid võib kasutada käesoleva leiutise antikehas leiduvate epitoopide lugemiseks. Lisateabe saamiseks vaadake USA patente nr 2002/0119492, 2004/0230380, 2006/0148009 ja seal loetletud viiteallikaid.

Ühes alternatiivses teostuses võivad käesoleva leiutise antikehad pärineda täielikult inimeselt ehk antikehade järjestused pärinevad täielikult või põhimõtteliselt inimeselt. „Täielikult inimpäritoluga antikeha“ tähistab inimese antikeha, mille geenide järjestus pärineb inimese kromosoomist deriveeritud antikehast ja omab siin välja toodud modifikatsioone. Täielikult inimpäritoluga antikehade loomiseks on teada arvukalt meetodeid, mis hõlmavad näiteks transgeensete hiirte kasutamist (Bruggemann *et al.*, 1997, Curr. Opin. Biotechnol. 8:455-458) või selektsioonimeetoditega liidetud inimese antikeha pankasid (Griffiths *et al.*, 1998, Curr. Opin. Biotechnol. 9:102-108).

CD19 suunatud antikehad

Nõudluspunktides defineeritud käesoleva leiutise antikehad seonduvad CD19-ga. Kasutamist võivad leida iga teadaoleva või veel avastamata anti-CD19 antikeha varieeruvad piirkonnad. Siin avaldatud antikehad võivad demonstreerida võrreldes alternatiivsete märklaudadega selektiivsust CD19 suhtes või selektiivsust mõne kindla märklaua vormi suhtes. Näideteks on täispikad vs. splaiss-variandid, rakupinna vs. lahustuvad vormid, selektiivsus erinevate polümorfsete variantide või selektiivsus märklaua spetsiifiliste konformatsiooniliste vormide suhtes. Siin avaldatud antikeha võib seonduda CD19-l iga epitoobi või piirkonnaga ja olla spetsiifiline nimetatud antigeenide fragmentide, muteerunud vormide, splaiss-vormide või muutunud vormide suhtes. Avastatud on mitu kasulikku antikeha, mis

on suunatud CD19-le ja võivad kasutust leida. Sobivateks antikehadeks või immunoloogilisteks adhesiinideks on CD19 antikehad või immunoloogilised adhesiinid MT-103's (üheaahelaline bispetsiifiline CD19/CD3 antikeha; Hoffman, P. *et al.* 2005. *Int. J. Cancer.* 115: 98-104; Schlereth, B. *et al.* 2006. *Cancer Immunol. Immunother.* 55: 503-514); CD19/CD16 diakeha (Schlenzka, J. *et al.* 2004. *Anti-cancer Drugs.* 15: 915-919; Kipriyanov, S.M *et al.* 2002. *J. Immunol.* 169: 137-144); BU12-saporiin (Flavell, D.J. *et al.* 1995. *Br. J. Cancer.* 72: 1373-1379) ja anti-CD19-idarubitsiin (Rowland, A.J. *et al.* 1993. *Cancer Immunol. Immunother.* 55: 503-514); Olson, USA publ. nr 2004/0136908A1, mis esitati 4. märtsil, 2004; USA patent nr 5 686 072; Olson, WO 02/080987A1, mis esitati 29. märtsil 2002; Tedder, WO 06/133450A1, mis esitati 8. juunil 2006; Tedder, WO 06/121852A2, mis esitati 5. aprillil 2006; Tedder, WO 06/089133A2, mis esitati 15. veebruaril 2006; Tedder, USA publ. nr 2006/280738A1, mis esitati 8. juunil 2006; USA patent nr 7 109 304; Hansen, USA publikatsioon nr 2005/070693A1, mis esitati 2. augustil 2004; Hansen, USA publikatsioon nr 2006/257398A1, mis esitati 1. juunil 2006; Hansen, WO 05/012493A2, mis esitati 2. augustil 2004; Rao-Naik, WO 07/002223A2, mis esitati 20 juunil 2006; Page, USA publikatsioon nr 2002/182208A1, mis esitati 16. mail 2002; USA patent nr 5 686 072; Page, EP 00481790B1, mis esitati 17. oktoobril 1991; Hariharan, USA patendipublikatsioon nr 2003/103971A1, mis esitati 12. septembril 2002; Goldenberg, USA publikatsioon nr 2003/133930A1, mis esitati 24. jaanuaril 2003; Goldenberg, USA publikatsioon nr 2004/219156A1, mis esitati 30 detsembril 2002; Hahharan, USA patendipublikatsioon nr 2007/0009519A1, mis esitati 21. juulil 2006; Curd, WO 00/067796A1, mis esitati 4. mail 2000; Kipriyanov, WO 03/088998A1, mis esitati 15. aprillil 2003; USA patent nr 7 112 324, USA patent nr 7 129 330; Olson, USA patendipublikatsioon nr 2004/013690A1, mis esitati 4. märtsil 2004; Darken, USA patendipublikatsioon nr 2006/0193852A1, mis esitati 5. mail 2006; Amphlett, USA patendipublikatsioon nr 2007/0009541A1, mis esitati 14. septembril 2006; Kersey, WO 96/36360A1, mis esitati 15. mail 1993; Kufer, WO 04/106381A1, mis esitati 26 mail 2004; Little, USA patendipublikatsioon nr 2007/031436A1, mis esitati 10 oktoobril 2006; Kufer, USA patendipublikatsioon nr 2007/123479A1, mis esitati 26 mail 2004; Baeuerle, WO 07/068354A1, mis esitati 29. novembril 2006; Le Gall, EP 01314741B1, mis esitati 14. novembril 2001; Pesando, WO 91/13974A1, mis

esitati 12. märtsil 1991; Alien *et al.*, Clin. Cancer. Res. 2005; 11(9), 1. mai 2005; Barbins *et al.*, J. Immunother, kd 29, nr 2, märts/aprill 2006; Bruenke *et al.*, Brit. J. Haem, 130, 218-2228 (2005); Callard, J. Immunol. kd 148, 2983-2987, nr 10, 15. mai 1992; Carter *et al.*, Immunol. Res. 2002; 26/1-3:45-54; Carter & Barrington, 5 Cuir. Dir. Autoimmun. Basel, Karger, 2004, kd 7, lk 4-32; W.W.W.K. Cheng *et al.*, Biochim. Biophys. Acta 1768 (2007) 21-29; Cochlovius, Cancer Res. 60, 4336-4341, 15. august 2000; L.J.N. Cooper *et al.*, Blood Cells, Molecules & Diseases, 33 (2004) 83-89; L.J.N. Cooper *et al.*, Blood, 15. veebruar 2005, kd 105, nr 4, lk 1622-1631; Culton *et al.*, J. Clin. Immunol., kd 27, nr 1, jaanuar 2007; Daniel *et al.*, 10 Blood, kd 92, nr 12 (15 detsember), 1998: lk 4750-4757; Doody *et al.*, Curr. Opin. Immun., 1996, lk 378-382; Dreier *et al.*, Int. J. Cancer, 100, 690-697 (2002); Dreier *et al.*, J. Immunol., 2003, lk 4397-4402; Fearon & Carter, Annu. Rev. Immunol. 1995. 13: 127-149; Fearon & Carroll, Annu. Rev. Immunol. 2000. 18: 393-422; Fujimoto & Sato, J. Dermatol. Sci. (2007), pressis; Le Gall *et al.*, Prot. Engr. Des. 15 & Select., kd 17, nr 4, lk 357-366, 2004; Ghetie *et al.*, Blood, 1. juuli 2004, kd 104, nr 1, lk 178-183; Ghetie *et al.*, Blood, kd 83, nr 5 (1 märts), 1994: lk 1329-1336; Ghetie *et al.*, Clin. Cancer Res., kd 5, 3920-2927, detsember, 1999; Ginaldi *et al.*, J. Clin. Pathol. 1998; 51: 364-369; Grossbard *et al.*, Clin. Cancer Res., kd 5, 2392-2398, september, 1999; Grossbard *et al.*, Brit. J. Haematol., 1998, 102, 509-515; 20 Grossbard *et al.*, Blood, kd 80, nr 4 (15. august), 1992: lk 863-878; Grossbard & Fidias, Clin. Immunol. & Immunopath., kd 76, nr 2, august, lk 107-114, 1995; M. Green, Cancer Immunol. Immunother. (2004) 53: 625-632; Harata *et al.*, Blood, 1. september 2004, kd 104, nr 5, lk 1442-1449; Hekman *et al.*, Cancer Immunol. Immunother. (1991) 32: 364-372; Hoffmann *et al.*, Int. J. Cancer: 115, 98-104 25 (2005); Kipriyanov *et al.*, J. Immunol. (2002), lk 138-144; Kipriyanov *et al.*, Int. J. Cancer: 77, 763-772 (1998); Kipriyanov *et al.*, J. Immunol. Meth. 196 (1996) 51-62; Lang *et al.*, Blood, 15. mai 2004, kd 103, nr 10, lk 3982-3985; Lankester *et al.*, J. Biol. Chem., kd 271, nr 37, 13 september, lk 22326-22330, 1996; Loeffler *et al.*, Blood, 15 märts 2000, kd 95, nr 6, lk 2098-2103; Masir *et al.*, Histopathol., 2006, 30 48, lk 239-246; Bargou *et al.*, MT103 (MEDI-538) Poster; Mitchell *et al.*, J. Nucl. Med. 2003; 44: 1106-1112; Molhoj *et al.*, Molec. Immunol., 44 (2007) 1935-1943; Pietersz *et al.*, Cancer Immunol. Immunother (1995) 41: 53-60; Sapro *et al.*, Clin. Cancer Res. kd 10, 1100-1111, 1 veebruar 2004; Schlereth *et al.*, Cancer

Immunol. Immunother. (2006) 55: 503-514; Schwemmler *et al.*, Leukemia (2007) 21, 1405-1412; Sieber *et al.*, Brit. J. Haematology, 2003, 121, 458-461; Stone *et al.*, Blood, kd 88, nr 4 (15 august), 1996: 1188-1197; Sun *et al.*, Molec. Immunolog. 41 (2004) 929-938; Tedder & Isaacs, J. Immunolog. kd 143, 712-717, 5 nr 2, 15 juuli, 1989; Tedder *et al.*, Curr. Dir. Autoimmun. Basel, Karger, 2005, kd 8, lk 55-90; Tedder *et al.*, Springer Semin. Immun. (2006) 28: 351-364; Tiroch *et al.*, J. Immunol., 2002, 168: 3275-3282; Uckun *et al.*, Blood, kd 71, nr 1 (jaanuar), 1988: lk 13-29; Uckun *et al.*, J. Immunol., kd 134, nr 3, märts 1985, lk 2010-2016; Vallera *et al.*, Clin. Cancer Res. 2005; 11(10) 15 mai, 2005; Vlasveld *et al.*, Cancer 10 Immunol. Immunother. (1995) 40: 37-47; Vuist *et al.*, Cancer Res, 49, 3783-3788, 15 juuli, 1989; Vuist *et al.*, Cancer Res, 50, 5767-5772, 15. september 1990; Yan *et al.*, Int. Immunol. kd 17, nr 7, lk 869-877 (2005); Yazawa *et al.*, PNAS 2005; 102; 15178-15183. Eelistatud on molekulid, mida on kirjeldatud USA patendis nr 5 686 072, WO 02/080987A1 ja USA patendipublikatsioon nr 2004/013908A1 ja 15 tähistatud kui 4G7, ning molekulid, mida on kirjeldatud patendis WO 1007/002223A2 ja Tedderi poolt.

Käesoleva leiutise antikehad võivad leida kasutamist erinevates toodetes. Ühes käesoleva leiutise teostuses on antikeha terapeutiline, diagnostiline või uuringutes kasutatav reaktiiv ja eelistatult terapeutiline reaktiiv. Käesoleva leiutise antikeha 20 võib omada rakendust monoklonaalses antikeha koostises. Käesoleva leiutise antikehad võivad olla antagonistid, neutraliseerivad või inhibeerivad ühendid. Ühes käesoleva leiutise eelistatud teostuses kasutatakse antikehasid märklaudantigeeni sisaldavate märklaudrakkude, näiteks kasvajakude, tapmiseks. Ühes alternatiivses teostuses kasutatakse käesoleva leiutise antikehasid 25 märklaudantigeeni blokeerimiseks või antagoniseerimiseks. Ühes alternatiivses eelistatud teostuses kasutatakse käesoleva leiutise antikehasid märklaudantigeeni blokeerimiseks või antagoniseerimiseks ja märklaud-antigeeni kandvate märklaudrakkude tapmiseks.

Anti-CD19 antikehad kui ravimid B-rakkude häirete ravimiseks

30 Antikehad on terapeutiliste valkude klass, mida võib kasutada B-rakkude häirete ravimiseks. Mitmed antikehade kasulikud omadused nagu märklauda spetsiifilisus, võime immuunefektori mehhanisme vahendada ja pikk poolestusaeg seerumis

muudavad need efektiivseteks terapeutilisteks aineteks. Käesolevas leiutises kirjeldatakse nõudluspunktides defineeritud antikehade kasutamist B-raku antigeeni CD19 vastu.

5 B-raku antigeen CD19 (CD19, teada ka kui B-raku pinna antigeen B4, Leu-12) on inimese pan-B-raku pinna märgis, mida avaldatakse pre-B-raku arengu varastes etappides läbi otsmise diferentseerumise plasma rakkudeks. CD19 soodustab küpsete B-rakkude proliferatsiooni ja ellujäämist. See antigeen seondub CD21-ga kompleksis olles rakupinnal. See seondub samuti CD81 ja Leu-13 ning võimendab B-raku retseptori (BCR) signalisatsiooni. CD19 moduleerib koos BCR-iga rakule
10 omaseid ja antigeeni retseptori indutseeritud signalisatsiooni lävendeid, mis omavad kriitilist tähtsust B-rakkude klonaausel paljunemisel ja humoraalses immuunsuses. Koos CD21-ga ühendab see adaptiivse ja loomupärase immuunsüsteemi. Aktiveerimisel muutub CD19 tsütoplasmiline lõpp fosforüleerituks, mis põhjustab seondumise Src-perekonna kinaasidega ja PI-3
15 kinaasi mobiliseerimise. Tegemist on atraktiivse immunoteraapia märklauaga lümfoididest pärinevate kasvajate ravimisel, kuna seda avaldatakse nii enamustes MHL-i rakkudes kui ka mõningates leukeemiates.

Eelkliiniliste uuringute või kliiniliste katsete käigus on kasvajate ravimiseks hinnatud mitmeid CD19-le suunatud antikehasid või antikeha konjugaate. Selliste
20 anti-CD19 antikehade või antikeha konjugaatide näideteks on MT-103 (üheaahelaline bispetsiifiline CD19/CD3 antikeha; Hoffman *et al.*, 2005 *Int. J. Cancer* 115: 98-104; Schlereth *et al.*, 2006 *Cancer Immunol. Immunother.* 55: 503-514), CD19/CD16 diakeha (Schlenzka *et al.*, 2004 *Anti-cancer Drugs* 15: 915-919; Kipriyanov *et al.*, 2002 *J. Immunol.* 169: 137-144), BU12-saporiin (Flavell *et al.*,
25 1995 *Br. J. Cancer* 72: 1373-1379) ja anti-CD19-idarubitsiin (Rowland *et al.*, 1993 *Cancer Immunol. Immunother.* 55: 503-514).

Anti-CD19 antikehade Fc optimeerimine

Eksisteerib arvukalt iseloomustatud mehhanisme, mida antikehad tsellulaarsete toimete vahendamiseks kasutavad ning nimetatud tsellulaarsete toimete näideteks
30 on antiproliferatsioon läbi vajalike kasvuradade blokeerimise, apoptoosi põhjustav intratsellulaarne signalisatsioon, retseptorite võimendatud allareguleerimine ja/või

ümberpööramine, komplemendist sõltuv tsütotoksilisus (CDC), antikehast sõltuv raku vahendatud tsütotoksilisus (ADCC), antikehast sõltuv raku vahendatud fagotsütoos (ADCP) ja adaptiivse immuunvastuse soodustamine (Cragg *et al.*, 1999, *Curr. Opin. Immunol.* 11: 541-547; Glennie *et al.*, 2000, *Immunol Today* 21: 403-410). Antikeha efektiivsus võib olla tingitud nende mehhanismide kombinatsioonist ja nende vastav olulisus onkoloogilises teraapias tundub sõltuvat kasvajast.

FcγR-vahendatud efektorfunktsioonide olulisust mõningate antikehade aktiivsusele on demonstreeritud hiirtel (Clynes *et al.*, 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 652-656; Clynes *et al.*, 2000, *Nat. Med.* 6: 443-446) ja vaadeldud kliinilise efektiivsuse korrelatsioonist inimeste ja nende FcγRIIIa suhtes kõrge (V158) või madala (F158) afiinsusega polümorfsete vormide allotüüpide vahel (Cartron *et al.*, 2002, *Blood* 99:754-758; Weng & Levy, 2003, *Journal of Clinical Oncology*, 21: 3940-3947). Kokkuvõetult võimaldavad need andmed soovitada, et antikeha, mida on teatud FcγR sidumiseks optimeeritud, võib vahendada efektorfunktsioone paremini ning hävitada seeläbi patsientide märklaudrakke efektiivsemalt. Seega on antikehade tuumorivastase potentsiaali suurendamisel lootustandvaks meetodiks antikehade tsütotoksiliste efektorfunktsioonide nagu ADCC, ADCP ja CDC vahendamisevõime parandamine. Lisaks võivad antikehad vahendada tuumorivastast mehhanismi läbi kasvu inhibeeriva või apoptootilise signalisatsiooni, mis esineb antikeha seondumisel tuumorirakkudel asuva märklauaga. Sellist signalisatsiooni saab suurendada, kui antikehad viiakse tuumori rakkudele, mis on seotud FcγR kaudu immuunrakkudega. Seega võib antikehade suurenenud afiinsus FcγR-ide suhtes anda parema antiproliferatiivse toime.

Antikeha geneetiline muutmine optimeeritud efektorfunktsiooni saavutamiseks on läbi viidud, kasutades aminohappe modifikatsioone (vaadake näiteks USA patente 2004/0132101 ja 2006/0024298 ning seal mainitud viiteallikaid) ja muudetud glükovorme (vaadake näiteks Umaña *et al.*, 1999, *Nat Biotechnol* 17:176-180; Shinkawa *et al.*, 2003, *J Biol. Chem.* 278: 3466-3473, Yamane-Ohnuki *et al.*, 2004, *Biotechnology and Bioengineering* 87(5): 614-621).

Modifikatsioonid efektorfunktsiooni optimeerimiseks

Käesolevas leiutises avaldatakse antikehasid hõlmavad modifikatsioonid, kus nimetatud modifikatsioonid muudavad ühe või rohkema Fc retseptori afiinsust ja/või antikeha võimet ühte või rohkemat efektorfunktsiooni vahendada.

- 5 Modifikatsioonid hõlmavad aminohappe modifikatsioone ja glükovormi modifikatsioone.

Aminohappe modifikatsioonid

USA patendis nr US 2006/0024298, mis esitati 5. mail 2005 ja kannab pealkirja "Optimized Fc Variants", võimaldavad aminohappe modifikatsioonid modifitseerida raske ahela konstantse piirkonna positsioonidel 221, 222, 223, 224, 225, 227, 228, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 249, 255, 258, 260, 262, 263, 264, 266, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 278, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 288, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 313, 317, 318, 15 320, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336 ja 337 FcyR sidumisomadusi, efektorfunktsiooni ja antikehade potentsiaalseid kliinilisi omadusi.

Täpsemalt, ühe või rohkema inimese Fc retseptoriga seondumist muutvad variandid võivad sisaldada raske ahela konstantses piirkonnas aminohappe modifikatsiooni, mis on valitud rühmast, kuhu kuuluvad 221K, 221Y, 222E, 222Y, 20 223E, 223K, 224E, 224Y, 225E, 225K, 225W, 227E, 227G, 227K, 227Y, 228E, 228G, 228K, 228Y, 230A, 230E, 230G, 230Y, 231E, 231G, 231K, 231P, 231Y, 232E, 232G, 232K, 232Y, 233A, 233D, 233F, 233G, 233H, 233I, 233K, 233L, 233M, 233N, 233Q, 233R, 233S, 233T, 233V, 233W, 233Y, 234A, 234D, 234E, 25 234F, 234G, 234H, 234I, 234K, 234M, 234N, 234P, 234Q, 234R, 234S, 234T, 234V, 234W, 234Y, 235A, 235D, 235E, 235F, 235G, 235H, 235I, 235K, 235M, 235N, 235P, 235Q, 235R, 235S, 235T, 235V, 235W, 235Y, 236A, 236D, 236E, 236F, 236H, 236I, 236K, 236L, 236M, 236N, 236P, 236Q, 236R, 236S, 236T, 236V, 236W, 236Y, 237D, 237E, 237F, 237H, 237I, 237K, 237L, 237M, 237N, 30 237P, 237Q, 237R, 237S, 237T, 237V, 237W, 237Y, 238D, 238E, 238F, 238G, 238H, 238I, 238K, 238L, 238M, 238N, 238Q, 238R, 238S, 238T, 238V, 238W,

238Y, 239D, 239E, 239F, 239G, 239H, 239I, 239K, 239L, 239M, 239N, 239P,
239Q, 239R, 239T, 239V, 239W, 239Y, 240A, 240I, 240M, 240T, 241D, 241E,
241L, 241R, 241S, 241 W, 241 Y, 243E, 243H, 243L, 243Q, 243R, 243W, 243Y,
244H, 245A, 246D, 246E, 246H, 246Y, 247G, 247V, 249H, 249Q, 249Y, 255E,
5 255Y, 258H, 258S, 258Y, 260D, 260E, 260H, 260Y, 262A, 262E, 262F, 262I,
262T, 263A, 263I, 263M, 263T, 264A, 264D, 264E, 264F, 264G, 264H, 264I,
264K, 264L, 264M, 264N, 264P, 264Q, 264R, 264S, 264T, 264W, 264Y, 265F,
265G, 265H, 265I, 265K, 265L, 265M, 265N, 265P, 265Q, 265R, 265S, 265T,
265V, 265W, 265Y, 266A, 266I, 266M, 266T, 267D, 267E, 267F, 267H, 267I,
10 267K, 267L, 267M, 267N, 267P, 267Q, 267R, 267T, 267V, 267W, 267Y, 268D,
268E, 268F, 268G, 268I, 268K, 268L, 268M, 268P, 268Q, 268R, 268T, 268V,
268W, 269F, 269G, 269H, 269I, 269K, 269L, 269M, 269N, 269P, 269R, 269S,
269T, 269V, 269W, 269Y, 270F, 270G, 270H, 270I, 270L, 270M, 270P, 270Q,
270R, 270S, 270T, 270W, 270Y, 271A, 271D, 271E, 271F, 271G, 271H, 271I,
15 271K, 271L, 271M, 271N, 271Q, 271R, 271S, 271T, 271V, 271W, 271Y, 272D,
272F, 272G, 272H, 272I, 272J, 272K, 272L, 272M, 272P, 272R, 272S, 272T, 272V,
272W, 272Y, 273I, 274D, 274E, 274F, 274G, 274H, 274I, 274L, 274M, 274N,
274P, 274R, 274T, 274V, 274W, 274Y, 275L, 275W, 276D, 276E, 276F, 276G,
276H, 276I, 276L, 276M, 276P, 276R, 276S, 276T, 276V, 276W, 276Y, 278D,
20 278E, 278G, 278H, 278I, 278K, 278L, 278M, 278N, 278P, 278Q, 278R, 278S,
278T, 278V, 278W, 280G, 280K, 280L, 280P, 280W, 281D, 281E, 281K, 281N,
281P, 281Q, 281Y, 282E, 282G, 282K, 282P, 282Y, 283G, 283H, 283K, 283L,
283P, 283R, 283Y, 284D, 284E, 284L, 284N, 284Q, 284T, 284Y, 285D, 285E,
285K, 285Q, 285W, 285Y, 286E, 286G, 286P, 286Y, 288P, 288E, 288Y, 290D,
25 290H, 290L, 290N, 290W, 291D, 291E, 291G, 291H, 291I, 291Q, 291T, 292D,
292E, 292T, 292Y, 293F, 293G, 293H, 293I, 293L, 293M, 293N, 293P, 293R,
293S, 293T, 293V, 293W, 293Y, 294F, 294G, 294H, 294I, 294K, 294L, 294M,
294P, 294R, 294S, 294T, 294V, 294W, 294Y, 295D, 295E, 295F, 295G, 295H,
295I, 295M, 295N, 295P, 295R, 295S, 295T, 295V, 295W, 295Y, 296A, 296D,
30 296E, 296G, 296H, 296I, 296K, 296L, 296M, 296N, 296Q, 296R, 296S, 296T,
296V, 297D, 297E, 297F, 297G, 297H, 297I, 297K, 297L, 297M, 297P, 297Q,
297R, 297S, 297T, 297V, 297W, 297Y, 298A, 298D, 298E, 298F, 298H, 298I,
298K, 298M, 298N, 298Q, 298R, 298T, 298W, 298Y, 299A, 299D, 299E, 299F,

299G, 299H, 299I, 299K, 299L, 299M, 299N, 299P, 299Q, 299R, 299S, 299V,
299W, 299Y, 300A, 300D, 300E, 300G, 300H, 300K, 300M, 300N, 300P, 300Q,
300R, 300S, 300T, 300V, 300W, 301D, 301E, 301H, 301Y, 302I, 303D, 303E,
303Y, 304D, 304H, 304L, 304N, 304T, 305E, 305T, 305Y, 313F, 317E, 317Q,
5 318H, 318L, 318Q, 318R, 318Y, 320D, 320F, 320G, 320H, 320I, 320L, 320N,
320P, 320S, 320T, 320V, 320W, 320Y, 322D, 322F, 322G, 322H, 322I, 322P,
322S, 322T, 322V, 322W, 322Y, 323I, 324D, 324F, 324G, 324H, 324I, 324L,
324M, 324P, 324R, 324T, 324V, 324W, 324Y, 325A, 325D, 325E, 325F, 325G,
325H, 325I, 325K, 325L, 325M, 325P, 325Q, 325R, 325S, 325T, 325V, 325W,
10 325Y, 326E, 326I, 326L, 326P, 326T, 327D, 327E, 327F, 327H, 327I, 327K, 327L,
327M, 327N, 327P, 327R, 327S, 327T, 327V, 327W, 327Y, 328A, 328D, 328E,
328F, 328G, 328H, 328I, 328K, 328M, 328N, 328P, 328Q, 328R, 328S, 328T,
328V, 328W, 328Y, 329D, 329E, 329F, 329G, 329H, 329I, 329K, 329L, 329M,
329N, 329Q, 329R, 329S, 329T, 329V, 329W, 329Y, 330E, 330F, 330G, 330H,
15 330I, 330L, 330M, 330N, 330P, 330R, 330S, 330T, 330V, 330W, 330Y, 331D,
331F, 331H, 331I, 331L, 331M, 331Q, 331R, 331T, 331V, 331W, 331Y, 332A,
332D, 332E, 332F, 332H, 332K, 332L, 332M, 332N, 332P, 332Q, 332R, 332S,
332T, 332V, 332W, 332Y, 333A, 333F, 333H, 333I, 333L, 333M, 333P, 333T,
333Y, 334A, 334F, 334I, 334L, 334P, 334T, 335D, 335F, 335G, 335H, 335I, 335L,
20 335M, 335N, 335P, 335R, 335S, 335V, 335W, 335Y, 336E, 336K, 336Y, 337E,
337H ja 337N, kus nummerdus vastab EU indeksile.

USA patendis nr 2005/0244403, mis esitati 24. märtsil 2005 ja kandis pealkirja
"Immunoglobulin variants outside the Fc region", võimaldavad aminohappe
modifikatsioonid raske ahela konstantse piirkonna positsioonidel 118, 119, 120,
25 121, 122, 124, 126, 129, 131, 132, 133, 135, 136, 137, 138, 139, 147, 148, 150,
151, 152, 153, 155, 157, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169,
171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 183, 187, 188, 189, 190, 191,
192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 201, 203, 205, 206, 207, 208, 209, 210,
211, 212, 213, 214, 216, 217, 218, 219, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228,
30 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235 ja 236 modifitseerida Fc γ R sidumisomadusi,
efektorfunktsiooni ja antikehade potentsiaalseid kliinilisi omadusi.

USA patendis nr 2005/0244403, mis esitati 24. märtsil 2005 ja kannab pealkirja "Immunoglobulin variants outside the Fc region", kirjeldatakse, et aminohappe modifikatsioonid kerge ahela konstantse piirkonna positsioonidel 108, 109, 110, 111, 112, 114, 116, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 131, 137, 138, 5 140, 141, 142, 143, 145, 147, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 176, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 187, 188, 189, 190, 191, 193, 195, 197, 199, 200, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 210, 211, 212 ja 213 võimaldavad modifitseerida Fc γ R sidumisomadusi, efektorfunktsiooni ja antikehade 10 potentsiaalseid kliinilisi omadusi.

Täpsemalt, ühe või rohkema inimese Fc retseptoriga seondumist muutvad variandid võivad sisaldada aminohappe modifikatsiooni siin kirjeldatud raske ahela konstantses piirkonnas, mis on valitud järgnevatest: 118K, 118E, 118Y, 119R, 119E, 119Y, 120R, 120E, 120I, 121E, 121Y, 121H, 122E, 122R, 124K, 124E, 15 124Y, 126K, 126D, 129L, 129D, 131G, 131T, 132D, 132R, 132L, 133R, 133E, 133L, 135I, 135E, 135K, 136E, 136K, 136I, 137E, 138S, 138R, 138D, 139I, 139E, 139K, 147A, 147E, 148Y, 148K, 150L, 150K, 150E, 151A, 151D, 152L, 152K, 153L, 153D, 155E, 155K, 155I, 157E, 157K, 157Y, 159K, 159D, 159L, 160K, 160E, 160Y, 161D, 162D, 162K, 162Y, 163R, 164R, 164E, 164Y, 165D, 165R, 20 165Y, 166D, 167A, 168L, 169E, 171G, 171H, 172K, 172L, 172E, 173T, 173D, 174E, 174K, 174Y, 175D, 175L, 176D, 176R, 176L, 177R, 177E, 177Y, 178D, 179K, 179Y, 179E, 180K, 180L, 180E, 183T, 187I, 187K, 187E, 188I, 189D, 189G, 190I, 190K, 190E, 191D, 191R, 191Y, 192N, 192R, 192L, 193F, 193E, 194R, 194D, 195R, 195D, 195Y, 196K, 196D, 196L, 197R, 197E, 197Y, 198L, 199T, 25 199D, 199K, 201E, 201K, 201L, 203D, 203L, 203K, 205D, 205L, 206A, 206E, 207K, 207D, 208R, 208E, 208Y, 209E, 209K, 209Y, 210L, 210E, 210Y, 211R, 211E, 211Y, 212Q, 212K, 212H, 212L, 212Y, 213N, 213E, 213H, 213L, 213Y, 214N, 214E, 214H, 214L, 214Y, 216N, 216K, 216H, 216L, 216Y, 217D, 217H, 217A, 217V, 217G, 218D, 218E, 218Q, 218T, 218H, 218L, 218Y, 219D, 219E, 30 219Q, 219K, 219T, 219H, 219L, 219I, 219Y, 205A, 210A, 213A, 214A, 218A, 221K, 221Y, 221E, 221N, 221Q, 221K, 221S, 221T, 221H, 221 A, 221V, 221L, 221I, 221F, 221M, 221W, 221P, 221G, 222E, 222Y, 222D, 222N, 222Q, 222R, 222S, 222T, 222H, 222V, 222L, 222I, 222F, 222M, 222W, 222P, 222G, 222A,

223D, 223N, 223Q, 223R, 223S, 223H, 223A, 223V, 223L, 223I, 223F, 223M,
223Y, 223W, 223P, 223G, 223E, 223K, 224D, 224N, 224Q, 224K, 224R, 224S,
224T, 224V, 224L, 224I, 224F, 224M, 224W, 224P, 224G, 224E, 224Y, 224A,
225D, 225N, 225Q, 225R, 225S, 225H, 225A, 225V, 225L, 225L, 225F, 225M,
5 225Y, 225P, 225G, 225E, 225K, 225W, 226S, 227E, 227K, 227Y, 227G, 227D,
227N, 227Q, 227R, 227S, 227T, 227H, 227A, 227V, 227L, 227I, 227F, 227M,
227W, 228K, 228Y, 228G, 228D, 228N, 228Q, 228R, 228T, 228H, 228A, 228V,
228L, 228I, 228F, 228M, 228W, 229S, 230A, 230E, 230Y, 230G, 230D, 230N,
230Q, 230K, 230R, 230S, 230T, 230H, 230V, 230L, 230I, 230F, 230M, 230W,
10 231K, 231P, 231D, 231N, 231Q, 231R, 231S, 231T, 231H, 231V, 231L, 231I,
231F, 231M, 231W, 232E, 232K, 232Y, 232G, 232D, 232N, 232Q, 232R, 232S,
232T, 232H, 232A, 232V, 232L, 232I, 232F, 232M, 232W, 233D, 233N, 233Q,
233R, 233S, 233T, 233H, 233A, 233V, 233L, 233I, 233F, 233M, 233Y, 233W,
233G, 234D, 234E, 234N, 234Q, 234T, 234H, 234Y, 234I, 234V, 234F, 234K,
15 234R, 234S, 234A, 234M, 234G, 235D, 235S, 235N, 235Q, 235T, 235H, 235Y,
235I, 235V, 235F, 235E, 235K, 235R, 235A, 235M, 235W, 235P, 235G, 236D,
236E, 236N, 236Q, 236K, 236R, 236S, 236T, 236H, 236A, 236V, 236L, 236I,
236F, 236M, 236Y, 236W ja 236P, kus nummerdus vastab EU indeksile.

Täpsemalt, variandid, mis muudavad seondumist ühe või rohkema inimese Fc
20 retseptoriga, võivad sisaldada aminohappe modifikatsiooni siin kirjeldatud kerge
ahela konstantses piirkonnas ja nimetatud modifikatsioon võib olla valitud rühmast,
kuhu kuuluvad 108D, 108I, 108Q, 109D, 109P, 109R, 110E, 110I, 110K, 111E,
111K, 111L, 112E, 112R, 112Y, 114D, 114I, 114K, 116T, 121D, 122R, 122S,
122Y, 123L, 123R, 124E, 125E, 125K, 126D, 126L, 126Q, 127A, 127D, 127K,
25 128N, 129E, 129I, 129K, 131T, 137K, 137S, 138D, 138K, 138L, 140E, 140H,
140K, 141E, 141K, 142D, 142G, 142L, 143A, 143L, 143R, 145D, 145T, 145Y,
147A, 147E, 147K, 149D, 149Y, 150A, 151I, 151K, 152L, 152R, 152S, 153D,
153H, 153S, 154E, 154R, 154V, 155E, 155I, 155K, 156A, 156D, 156R, 157N,
158D, 158L, 158R, 159E, 159K, 159L, 160K, 160V, 161K, 161L, 162T, 163E,
30 163K, 163T, 164Q, 165K, 165P, 165Y, 166E, 166M, 166S, 167K, 167L, 168K,
168Q, 168Y, 169D, 169H, 169S, 170I, 170N, 170R, 171A, 171N, 171V, 172E,
172I, 172K, 173K, 173L, 173Q, 174A, 176T, 180E, 180K, 180S, 181K, 182E,
182R, 182T, 183D, 183L, 183E, 184E, 184K, 184Y, 185I, 185Q, 185R, 187K,

187Y, 188E, 188S, 188Y, 189D, 189K, 189Y, 190E, 190L, 190R, 191E, 191R, 191S, 193E, 193K, 193S, 195I, 195K, 195Q, 197E, 197K, 197L, 199E, 199K, 199Y, 200S, 202D, 202R, 202Y, 203D, 203L, 203R, 204T, 205E, 205K, 206E, 206I, 206K, 207A, 207E, 207L, 208E, 208K, 208T, 210A, 210E, 210K, 211A, 5 211E, 211P, 212E, 212K, 212T, 213L ja 213R, kus nummerdus vastab EU indeksile.

Täiendavateks asendusteks, mida võib samuti kasutada, on muud Fc retseptori afiinsust, Fc γ R-vahendatud efektorfunktsiooni ja/või komplemendi vahendatud efektorfunktsiooni moduleerivad asendused, mille näideteks on 298A, 298T, 326A, 10 326D, 326E, 326W, 326Y, 333A, 333S, 334L ja 334A (USA patent nr 6 737 056; Shields *et al.*, Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(9): 6591-6604; USA patent nr 6 528 624; Idusogie *et al.*, 2001, J. Immunology 166:2571-2572), 247L, 255L, 270E, 392T, 396L ja 421K (USA patent nr 2005/0037000; USA patent nr 2005/0064514) ja 280H, 280Q ning 280Y (USA patent nr 2004/0002587).

15 Muudes käesoleva leiutise teostustes võib siin kirjeldatud antikehad liita FcRn-i sidumisomadusi muutvate konstantse piirkonna raske ahela variantidega. Need hõlmavad modifikatsioone, mis modifitseerivad FcRn-i afiinsust pH spetsiifiliselt. Täpsemalt, variantide, mis suurendavad Fc seondumist FcRn-iga, näideteks on: 250E, 250Q, 428L, 428F, 250Q/428L (Hinton *et al.*, 2004, J. Biol. Chem. 279(8): 20 6213-6216, Hinton *et al.* 2006 Journal of Immunology 176: 346-356, USA patent nr 2005/0276799, PCT WO 2004/035752, PCT WO 2004/092219, USA patent nr 2005/0014934, USA patent nr 2005/0032114, PCT WO 2005/037867, USA patent nr 2005/0226864), 256A, 272A, 286A, 305A, 307A, 311A, 312A, 376A, 378Q, 380A, 382A, 434A (Shields *et al.*, Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(9): 25 6591-6604, USA patent nr 2005/0118174, USA patent nr 6 737 056, USA patent nr 2006/0194291, USA patent nr 2006/0194957, PCT WO 2006/031370, USA patent nr 2006/0067930), 252F, 252T, 252Y, 252W, 254T, 256S, 256R, 256Q, 256E, 256D, 256T, 309P, 311S, 433R, 433S, 433I, 433P, 433Q, 434H, 434F, 434Y, 252Y/254T/256E, 433K/434F/436H, 308T/309P/311S (Dall Acqua *et al.* 30 Journal of Immunology, 2002, 169: 5171-5180, USA patent nr 7 083 784, PCT WO 1997/034631, PCT WO 2002/060919, USA patent nr 2006/0198840), 257C, 257M, 257L, 257N, 257Y, 279E, 279Q, 279Y, Ser sisestus pärast 281, 283F,

284E, 306Y, 307V, 308F, 308Y 311 V, 385H, 385N (PCT WO 2006/053301, USA patent nr 2006/0173170, USA patent nr 2007/0135620), 204D, 284E, 285E, 286D, ja 290E (PCT WO 2005/047327).

Antikehad võivad sisaldada isotüübi modifikatsioone ehk lähte IgG modifikatsioone
5 alternatiivses IgG olevaks aminohappe tüübiks. Näiteks joonisel Fig 3 kujutatu
alusel võib IgG1/IgG3 hübriidvariandi valmistada, asendades CH2 ja/või CH3
piirkonna IgG1 positsioonid IgG3 aminohapetega positsioonidel, kus kaks isotüüpi
erinevad. Seeläbi saab valmistada hübriidse IgG variantantikeha, mis sisaldab
ühte või rohkemat järgnevast rühmast valitud asendust: 274Q, 276K, 300F, 339T,
10 356E, 358M, 384S, 392N, 397M, 422I, 435R ja 436F. IgG1/IgG2 hübriidvariandi
võib valmistada, asendades CH2 ja/või CH3 piirkonna IgG2 positsioonid IgG1
aminohapetega positsioonidel, kus kaks isotüüpi erinevad. Seeläbi saab
valmistada hübriidvariandist IgG antikeha, mis sisaldab ühte või rohkemat 233E,
234L, 235L, -236G (tähistab glütsiini sisestust positsioonile 236) ja 327A hulgast
15 valitud modifikatsiooni.

Glükovormi modifikatsioonid

Paljudel polüpeptiididel, k.a antikehadel, rakendatakse mitmeid erinevaid
translatsioonijärgseid modifikatsioone, mis hõlmavad süsivesikute fragmente,
näiteks glükosülatsiooni oligosahhariididega. Glükosüülimist võivad mõjutada
20 mitmed faktorid. Glükosüülimise käigus on olulised liik, kude ja raku tüüp. Lisaks
võib glükosüülimisele otsest mõju avaldada ka ekstratsellulaarne keskkond,
näiteks läbi muudetud kultuuri tingimuste nagu seerumi kontsentratsiooni (Lifely *et al.*, 1995, *Glycobiology* 5(8): 813-822).

Kõik antikehad sisaldavad raske ahela konstantsete piirkondade konserveeritud
25 positsioonidel süsivesikut. Igal antikeha isotüübil on erinev N-aheldatud süsivesiku
struktuur. Lisaks raske ahela külge kinnitatud süsivesikule on kuni 30% inimese
IgG-del glükosüülitud Fab piirkond. IgG-I on CH2 domääni Asn297-ks N-aheldatud
biantennaarne süsivesik. Seerumist pärineva või hübriidoomides või muudetud
rakkudes *ex vivo* valmistatud IgG korral on IgG Asn297-ga aheldatud süsivesiku
30 põhjal heterogeenne (Jefferis *et al.*, 1998, *Immunol. Rev.* 163: 59-76; Wright *et al.*,
1997, *Trends Biotech* 15: 26-32). Inimese IgG korral koosneb tuuma

oligosahhariid tavaliselt GlcNAc₂Man₃GlcNAc, millel on erinev kogus välimisi jääke.

Käesoleva leiutise antikehade süsivesiku fragmentide kirjeldamisel kasutatakse oligosahhariidide kirjeldamiseks tavaliselt kasutatavat nomenklatuuri. Sellist nomenklatuuri kasutava süsivesiku keemia ülevaade on toodud näiteks Hubbard
5 *et al.* 1981, *Ann. Rev. Biochem.* 50: 555-583. See nomenklatuur hõlmab näiteks lühendeid Man, mis sümboliseerib mannoosi; GlcNAc, mis tähistab 2-N-atsetüülglükoosamiini; Gal, mis tähistab galaktoosi; Fuc, mis kujutab fukoosi; ja Glc, mis sümboliseerib glükoosi. Siaalhappeid kirjeldatakse lühendiga NeuNAc (5-
10 N-atsetüülneuramiinhape) ja NeuNGc (5-glükolüülneuramiinhape).

Mõiste „glükosüülimine“ tähistab oligosahhariidide (süsivesikud, mis sisaldavad kahte või rohkemat ühendatud lihtsat suhkrut, näiteks kaks kuni umbes 12 liidetud lihtsat suhkrut) kinnitust glükoproteiiniga. Oligosahhariidide kõrvalahelad on liidetud glükoproteiini struktuuriga tavaliselt läbi N- või O-ahelduste. Käesoleva
15 leiutise antikehade oligosahhariidid on kinnitatud tavaliselt Fc piirkonna CH₂ domääni külge kui N-aheldatud oligosahhariidid. „N-aheldatud glükosüülimine“ tähistab süsivesiku fragmendi kinnitust glükoproteiini ahela asparagiini jäägi külge. Kogenud praktiseerija mõistab, et näiteks igal hiire IgG1, IgG2a, IgG2b ja IgG3, nagu ka inimese IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA ja IgD CH₂ domäänil on üks N-
20 aheldatud glükosüülimise piirkond aminohappejäägil 297 (Kabat *et al.* *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 1991).

Käesoleva leiutise eesmärgidel tähistab „küps tuuma süsivesiku struktuur“ töödeldud tuuma süsivesiku struktuuri, mis on kinnitatud Fc piirkonna külge, mis koosneb üldiselt järgnevast biantennaarsetele oligosahhariididele omasest
25 süsivesiku struktuurist GlcNAc(fukoos)-GlcNAc-Man-(Man-GlcNAc)₂. Küps tuuma süsivesiku struktuur on kinnitatud glükoproteiini Fc piirkonna külge tavaliselt läbi Asn₂₉₇ N-ahelduse Fc piirkonna CH₂ domääniga. „Poolitav GlcNAc“ on GlcNAc jääk, mis on kinnitatud küpse tuuma süsivesiku struktuuri mannoosi külge. Poolitav GlcNAc võib olla kinnitatud läbi β(1,4)-N-atsetüülglükoosaminüültransferaasi III
30 ensüümi (GnTIII) ensümaatilisel küpse tuuma süsivesiku struktuuri külge. CHO rakud ei avalda tavaliselt GnTIII (Stanley *et al.*, 1984, *J. Biol. Chem.* 261: 13 3370-

13 378), kuid neid võib selliseks avaldamiseks geneetiliselt töödelda (Umaña *et al.*, 1999, Nature Biotech. 17: 176-180).

Käesolevas leiutises kirjeldatakse nõudluspunktides defineeritud antikehasid, mis sisaldavad modifitseeritud glükovorme või geneetiliselt muundatud glükovorme.

5 „Modifitseeritud glükovorm“ või „geneetiliselt muudetud glükovorm“ tähistab siin kasutatuna süsivesiku koostist, mis on kinnitatud kovalentselt valgu nagu antikehaga ja nimetatud süsivesiku koostis erineb keemiliselt lähtevalgu koostisest. Geneetiliselt muudetud glükovorme võib kasutada erinevatel eesmärkidel, k.a FcyR-vahendatud efektorfunktsiooni võimendamiseks või

10 vähendamiseks. Käesoleva leiutise antikehasid võib modifitseerida fukosüülitud ja/või poolitavate oligosahhariidide, mis on kovalentselt Fc piirkonna külge kinnitatud, taseme kontrollimiseks.

Traditsiooniliselt on Hiina hamstri munarakkudes (CHO), mis on üheks enim kasutatavamaks tööstuslikuks peremeheks, toodetud antikehad umbes 2% kuni

15 6% ulatuses fukosüülimata. Kuid YB2/0 (roti müeloomi) ja Lec13 rakuliini (CHO rakuliini lektiini mutant, millel on GDP-mannoosi 4,6-dehüdrataasi defitsiit, mis põhjustab omakorda GDP-fukoosi või GDP-suhkru vaheühendite, mis on α 1,6-fukosüültransferaasi substraadiks, defitsiiti (Ripka *et al.*, 1986)) kasutamine võimaldab toota antikehasid, millel on 78% kuni 98% ulatuses fukosüülimata.

20 Kahjuks on antikeha saagis nendest rakkudest ülimalt madal ja seega ei ole need rakuliinid kasulikud terapeutiliste antikehatoodete tööstuslikus mastaabis tootmiseks. FUT8 geen kodeerib α 1,6-fukosüültransferaasi ensüümi, mis katalüüsib fukosüüljäägi siiret GDP-fukoosist N-glükaani Asn-aheldatud (N-aheldatud) GlcNAc positsioonile 6 (Yanagidani *et al.*, 1997, J Biochem 121: 626-

25 632). On teada, et α 1,6-fukosüültransferaas on ainukeseks ensüümiks, mis vastutab fukoosi lisamise eest IgG antikeha CH2 domääni Asn297 olevale N-aheldatud biantennaarsele süsivesikule.

Modifitseeritud glükovormide valmistamiseks saab kasutada mitmeid teadaolevaid meetodeid Umaña *et al.*, 1999, Nat Biotechnol. 17:176-180; Davies *et al.*, 2001,

30 Biotechnol. Bioeng. 74: 288-294; Shields *et al.*, 2002, J. Biol. Chem. 277: 26733-26740; Shinkawa *et al.*, 2003, J. Biol. Chem. 278: 3466-3473); (USA patent nr 6 602 684; USA patent nr 2003/0157108; USA patent nr 2003/0003097; PCT WO

00/61739A1; PCT WO 01/29246A1; PCT WO 02/31140A1; PCT WO 02/30954A1); Yamane-Ohnuki *et al.*, 2004, *Biotechnology and Bioengineering* 87(5): 614-621; (Potelligent™ tehnoloogia [Biowa, Inc., Princeton, NJ, USA]; GlycoMAb™ glükosülatsiooni geneetilise muutmise tehnoloogia [GLYCART
5 biotechnology AG, Zürich, Šveits]). Need tehnikad kontrollivad fukosüülitud ja/või poolitavate oligosahhariidide tasemeid, mis on kinnitatud kovalentselt Fc piirkonna külge, näiteks läbi IgG avaldamise erinevates organismides või rakuliinides, mis võivad olla geneetiliselt või muude meetoditega muudetud (näiteks Lec13 CHO rakud või roti hübriidoomi YB2/0 rakud); reguleerides glükosülatsioonirajas
10 osalevaid ensüüme (näiteks FUT8 [α 1,6-fukosüültransferaasi] ja/või β 1-4-N-atsetüülglukoosaminüültransferaasi III [GnTIII]; või modifitseerides pärast IgG avaldamist süsivesikuid.

Muud käesoleva leiutise antikehade glükovormide modifitseerimismeetodid hõlmavad pärmi (Li *et al.*, 2006, *Nature Biotechnology* 24(2):210-215), sambla
15 (Nechansky *et al.*, 2007, *Mol. Immunol.* 44(7): 1826-8) ja taimede (Cox *et al.*, 2006, *Nat. Biotechnol.* 24(12): 1591-7) glükomuudetud tüvede kasutamist. Glükovormide modifitseerimismeetodite näideteks on pärmi *Pichia pastoris* glükomuudetud tüve (Li *et al.*, 2006, *Nature Biotechnology* 24(2): 210-215) või sambla *Physcomitrella patens* glükomuudetud tüve kasutamine, kus ensüümid
20 β 1,2-ksülosüültransferaas ja/või α 1,3-fukosüültransferaas on eemaldatud (Nechansky *et al.*, 2007, *Mol. Immunol.* 44(7): 1826-8); ja RNA interferentsi kasutamine endogeense alfa-1,3-fukosüültransferaasi ja/või beeta-1,2-ksülosüültransferaasi inhibeerimiseks veetaimes *Lemna minor* (Cox *et al.*, 2006, *Nat. Biotechnol.* 24(12): 1591-7).

25 Modifitseeritud või geneetiliselt muudetud glükovorm tähistab tavaliselt erinevat süsivesikut või oligosahhariidi; näiteks võib antikeha sisaldada geneetiliselt muudetud glükovormi. Alternatiivina võib geneetiliselt muudetud glükovorm tähistada antikeha, mis sisaldab erinevat süsivesikut või oligosahhariidi. Siin kirjeldatud modifitseeritud glükovormide juures on „lähteantikehaks“ glükosüülitud
30 antikeha, millel on sama aminohappejärjestus ja küps tuuma süsivesiku struktuur kui käesoleva leiutise geneetiliselt muudetud glükovormil, v.a fukoosi kinnitatus lähteantikeha küpse tuuma süsivesiku struktuuri külge. Näiteks lähteglükoproteiini

sisaldavas koostises sisaldab umbes 50-100% või umbes 70-100% lähteglükoproteiini küpset tuuma süsivesiku struktuuri, mille külge fukoos on kinnitatud.

5 Käesolevas leiutises avaldatakse koostis, mis sisaldab mitut nõudluspunktides defineeritud glükosüülitud antikeha, kus umbes 80-100% koostise antikehadest sisaldab küpset tuuma süsivesiku struktuuri, mis on fukoosivaba, ja eelistatult on enamuse (umbes 90-99%) koostises leiduvast antikehast küpse tuuma süsivesiku struktuuri külge kinnitatud fukoosi vaba. Siin kirjeldatud koostises leiduv antikeha võib sisaldada nii küpset tuuma süsivesiku struktuuri, mis on fukoosivaba, kui ka 10 vähemalt ühte täiendavat Fc piirkonnas esinevat aminohappe modifikatsiooni. Geneetiliselt muudetud glükovormi ja aminohappe modifikatsiooni kombinatsioon annab antikehale optimaalsed Fc retseptori sidumise omadused.

Antikehade optimeeritud omadused

15 Käesolevas leiutises avaldatakse variantantikehad, mille mitmed terapeutiliselt olulised omadused on optimeeritud. Variantantikeha sisaldab võrreldes lähteantikehaga ühte või rohkemat aminohappe modifikatsiooni ja nimetatud aminohappe modifikatsioonid annavad ühe või mitu optimeeritud omadust. Seega võivad antikehadeks olla variantantikehad. Siin kirjeldatud antikeha erineb oma lähteantikeha aminohappejärjestusest vähemalt ühe aminohappe modifikatsiooni 20 alusel. Seega esineb variantantikehadel võrreldes lähteantikehaga vähemalt üks aminohappe modifikatsioon. Alternatiivina võib variantantikehadel olla võrreldes lähteantikehaga rohkem kui üks aminohappe modifikatsioon, näiteks umbes 1 kuni 50 aminohappe modifikatsiooni, eelistatult umbes 1 kuni 10 aminohappe modifikatsiooni ja kõige eelistatumalt umbes 1 kuni umbes 5 aminohappe 25 modifikatsiooni. Seega on variantantikehade ja lähteantikehade järjestused põhimõtteliselt homoloogsed. Näiteks on siin avaldatud variantantikehade järjestused umbes 80% ulatuses lähteantikeha järjestusega homoloogsed, eelistatult vähemalt umbes 90% ulatuses homoloogsed ja kõige eelistatumalt vähemalt umbes 95% ulatuses homoloogsed.

30 Antikehad võivad sisaldada aminohappe modifikatsioone, mis võimaldavad võrreldes lähteantikehaga optimeeritud efektorfunktsiooni omadusi. Kõige

eelistatuid asendusi ja optimeeritud efektorfunktsiooni omadusi on kirjeldatud patentides US 2004/0132101, PCT WO 2004/029207 ja US 2005/0054832.

Optimeeritavate omaduste näideteks on võimendatud või vähendatud afiinsus Fc γ R suhtes. Antikehasid on optimeeritud paranenud afiinsuse saavutamiseks inimese aktiveeriva Fc γ R suhtes ja eelistatult Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIa ja Fc γ RIIIb ning kõige eelistatumalt Fc γ RIIIa suhtes. Antikehasid on optimeeritud vähenenud afiinsuse saavutamiseks inimese inhibeeriva retseptori Fc γ RIIb suhtes. Eeldatakse, et läbi nende eelistatud teostuste saadakse antikehad, mille terapeutilised omadused inimestel on paranenud, võimaldades näiteks paremat efektorfunktsiooni ja suuremat kasvajakavastast potentsiaali. Antikehasid on optimeeritud vähenenud või eemaldatud afiinsuse saavutamiseks inimese Fc γ R suhtes, näiteks Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIb, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIa ja Fc γ RIIIb suhtes. Eeldatakse, et need teostused annavad antikehad, mille terapeutilised omadused inimestel on paranenud, võimaldades näiteks väiksemat efektorfunktsiooni ja väiksemat toksilisust. Antikehad võimaldavad suuremat afiinsust ühe või rohkema Fc γ R suhtes ja samal ajal vähenenud afiinsust ühe või rohkema muu Fc γ R suhtes. Näiteks võib antikeha seondumine Fc γ RIIIa olla paranenud, samas kui seondumine Fc γ RIIb võib olla vähenenud. Alternatiivina võib antikeha seondumine Fc γ RIIa ja Fc γ RI olla paranenud, samas kui seondumine Fc γ RIIb võib olla vähenenud. Ja veel ühes teostuses võib antikeha afiinsus Fc γ RIIb suhtes olla suurenenud, samas kui afiinsus ühe või rohkema aktiveeriva Fc γ R suhtes võib olla vähenenud.

Modifikatsioon parandab eelistatult seondumisafiinsust ühe või rohkema Fc γ R-ga. Lähteimmunoglobuliinist „suurema afiinsuse“ või „paranenud afiinsuse“ või „võimendatud afiinsuse“ või „parema afiinsuse“ all peetakse silmas, et Fc variant seondub juhul, kui variantantikeha ja lähteantikeha kogused sidumisanalüüsis on põhimõtteliselt samad, Fc retseptoriga oluliselt kõrgema assotsiatsiooni tasakaalukonstandi (KA) või madalama dissotsiatsiooni tasakaalukonstandiga (KD) kui lähteantikeha. Näiteks võib paranenud Fc γ R sidumisasiinsusega Fc variant demonstreerida võrreldes lähtepolüpeptiidiga, kus Fc retseptori sidumisasiinsus määratakse (näiteks vastavalt siin kirjeldatud näidetes avaldatule), umbes 5 kuni umbes 1000 kordset, näiteks umbes 10 kuni umbes 500 kordset Fc

retseptori seondumise paranemist. Seega tähistab „vähenenud afiinsus“ siin võrreldes Fc lähtepolüpeptiidiga kasutatuna, et Fc variant seondub Fc retseptoriga märkimisväärselt madalama KA või kõrgema KD kui lähtepolüpeptiid.

Käesoleva uuringu andmed näitavad, et inimese MT IgG1 seondub inimese V158 FcγRIIIa umbes 240 nM afiinsusega (näide 1). See vastab kirjanduses avaldatud andmetele, mis näitavad, et sidumine on umbes 200-500 nM, määratuna Biacore analüüsi (210 nM vastavalt Okazaki *et al.*, 2004, J. Mol. Bio. 336: 1239-49; 250 nM vastavalt Lazar *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1, 03(11): 4005-4010) ja kalorimeetriaga (530 nM, Okazaki *et al.*, 2004, J Mol. Bio. 336:1239-49). Kuid ühes uuringus mõõdeti afiinsus, mis oli nii madal kui 750 nM (Ferrara *et al.*, 2006, J. Biol. Chem. 281 (8): 5032-5036). Kuigi seandumine F158 FcγRIIIa'ga oli madalam kui käesolevas uuringus kasutatud 5 uM lävendväärtus, näitavad kirjanduses avaldatud andmed, et inimese MT IgG1 seondub inimese F158 FcγRIIIa'ga umbes 3-5 uM afiinsusega, mida demonstreerivad nii kalorimeetria (2,7 uM, Okazaki *et al.*, 2004, J. Mol. Bio. 336:1239-49) kui ka Biacore analüüs (5,0 uM, Ferrara *et al.*, 2006, J. Biol. Chem. 281(8): 5032-5036).

Antikehad võivad hõlmata Fc inimese FcγR-ga seondumise optimeerimist, samas alternatiivina omavad antikehad suurenenud või vähenenud afiinsust inimestest erinevate organismide, näiteks näriliste ja primaatide, FcγR-de suhtes. Katsetes võib kasutada antikehasid, mida on optimeeritud inimesest erineva liigi FcγR-idega seandumiseks. Näiteks paljude haiguste korral on võimalik kasutada hiire mudeleid, mis võimaldavad analüüsida potentsiaalse ravimi omadusi nagu efektiivsust, toksilisust ja farmakokineetikat. Praktikas on teada, et kasvajarakud saab siirdada või sisestada inimkasvaja jäljendamiseks hiirtesse - seda protsessi kutsutakse ksenotransplantaadi siirdamiseks. Ühe või rohkema hiire FcγR suhtes optimeeritud antikehade analüüsimine võib anda väärtuslikke andmeid valgu efektiivsuse, selle toimemehhanismi jne kohta. Antikehasid võib optimeerida parema funktsionaalsuse ja/või lahuse omaduste saavutamiseks aglükosüülitud vormis. Aglükosüülitud antikehad seonduvad Fc ligandiga suurema afiinsusega kui lähteantikeha aglükosüülitud vorm. Nimetatud Fc ligandide näideteks on FcγR-id, C1q, FcRn ja valgud A ning G ning need võivad pärineda inimestelt, hiirtelt, rottidelt küülikutelt, ahvidelt ja eelistatult inimestelt. Antikehad võivad muutuda

optimeerimisel stabiilsemateks ja/või paremini lahustuvamateks kui lähteantikeha aglükosüülitud vormid.

Antikehad võivad sisaldada modifikatsioone, mis moduleerivad interaktsiooni Fc γ R-dest erinevate Fc liganditega, näiteks komplemendi valkude, FcRn ja Fc
5 retseptori homoloogidega (FcRH-d). FcRH-de näideteks on FcRH1, FcRH2, FcRH3, FcRH4, FcRH5 ja FcRH6 (Davis *et al.*, 2002, Immunol. Reviews 190: 123-136).

Eelistatult määrab antikeha Fc ligandi spetsiifilisus selle terapeutilise kasutusotstarbe. Antikeha terapeutiline kasutusotstarve sõltub märklaudantigeeni
10 epitoobist või vormist ja ravitavast haigusest. Mõningate märklaudade ja haiguste korral võivad olla eelistatud võimendatud Fc γ R-vahendatud efektorfunktsioonid. See võib osutada eriti eelistatuks kasvavastaste antikehade korral. Seega võib kasutada antikehasid, mis omakorda sisaldavad antikehasid, mille afiinsus Fc γ R-
de aktiveerimiseks on suurenenud ja/või afiinsus Fc γ R-de inhibeerimiseks on
15 alanenud. Mõningate märklaudade ja haiguste korral on lisaks eelistatud kasutada antikehasid, mis võimaldavad erinevat selektiivsust erinevate aktiveerivate Fc γ R-
ide suhtes; näiteks mõningatel juhtudel võib osutada soovitavaks parem seondumine Fc γ RIIa ja Fc γ RIIIa-ga, kuid mitte Fc γ RI-ga, samas kui muudel juhtudel võib olla eelistatud parem seondumine ainult Fc γ RIIa-ga. Teatud
20 märklaudade ja haiguste korral võib osutada eelistatuks antikehade kasutamine, mis parandavad nii Fc γ R-vahendatud kui ka komplemendi vahendatud efektorfunktsioone, samas kui muudel juhtudel võivad osutada eelistatuks antikehad, mis parandavad Fc γ R-vahendatud või komplemendi vahendatud efektorfunktsioone. Mõningate märklaudade või kasvaja sümptomite korral võib
25 osutada eelistatuks ühe või rohkema efektorfunktsiooni vähendamine või kõrvaldamine, kõrvaldades näiteks seondumise C1q, ühe või rohkema Fc γ R-i, FcRn-i või ühe või rohkema muu Fc ligandiga. Muude märklaudade ja sümptomite korral võib olla eelistatud kasutada antikehasid, mis võimaldavad paremat seondumist inhibeeriva Fc γ RIIb-ga, mis jääb samas MT tasemele, ning
30 vähenenud või kõrvaldatud seondumist aktiveerivate Fc γ R-dega. See võib osutada eriti kasulikuks, kui antikeha otstarbeks on põletiku või autoimmuunse haiguse inhibeerimine või immuunsüsteemi moduleerimine.

Arusaadavalt on üheks oluliseks parameetriks, mis antud antikeha kõige kasulikuma selektiivsuse antud haiguse ravimiseks määrab, kasutatava antikeha tüüp. Seega tekitab Fc ligandi selektiivsus või spetsiifilisus antud antikeha suhtes sõltuvalt sellest, kas see sisaldab liidetud fusioonpartneri või konjugaadi partneriga antikeha või antikehasid, erinevaid omadusi. Näiteks toksiin, radionukleotiid või muud konjugaadid võivad olla tervetele rakkudele vähem toksilised juhul, kui neid sisaldaval antikehal on ühe või rohkema Fc ligandi suhtes vähenenud või kõrvaldatud seondumisvõime. Veel ühe näitena võib põletiku või autoimmuunse haiguse inhibeerimiseks osutada eelistatuks antikeha, millel on suurenenud afiinsus aktiveerivate FcγR-de suhtes, näiteks nende FcγR-dega seondumiseks ja nende aktiveerimise vältimiseks. Samas antikeha, mis omab kahte või rohkemat suurenenud FcγRIIb afiinsusega Fc piirkonda, võib seda retseptorit immuunrakkude pinnal blokeerida, inhibeerides seeläbi nende rakkude proliferatsiooni. Kui mõningatel juhtudel võib antikeha blokeerida oma märklaud-antigeeni ühel rakutüübil ning blokeerida endiselt FcγR-sid märklaud-antigeenist erinevatel rakkudel, siis muudel juhtudel võib osutada eelistatuks FcγR-de blokeerimine samade rakkude pinnal kui märklaud-antigeeni blokeerimisel. Näiteks juhul, kui antikeha on suunatud antigeenile, mis asub rakul, mis avaldab samuti ühte või mitut FcγR-i, võib osutada eelistatuks antikeha kasutamine, mis suurendab või vähendab selle raku pinnal FcγR-dega seondumist. Selline olukord võib esineda, kui antikeha kasutatakse näiteks kasvaja vastase aina ja märklaudantigeeni ning FcγR koosblokeerimine sama raku pinnal soodustab raku signalisatsioonisündmusi, mis põhjustavad kasvu inhibeerimist, apoptoosi ja muid antiproliferatiivseid toimeid. Alternatiivina võib antigeeni ja FcγR samal rakul koos blokeerimine osutada eelistatuks, kui antikeha kasutatakse immuunsüsteemi moduleerimiseks ja sellisel juhul tekitab märklaudantigeeni ja FcγR koos blokeerimine mõningase proliferatiivse või antiproliferatiivse toime. Samuti võivad antikehadest, mis moduleerivad FcγR selektiivsust või spetsiifilisust, saada kasu antikehad, mis sisaldavad kahte või rohkemat Fc piirkonda, kuna see võimaldab neil FcγR-sid sama raku pinnal koos blokeerida.

Siin kirjeldatud antikehade Fc ligandi spetsiifilisust saab moduleerida erinevate efektorfunktsiooni profiilide loomiseks, mis sobivad konkreetse antigeeni epitoopide, haiguse sümptomite või patsiendi rühmadega. Joonisel Fig 5 on

kujutatud retseptori sidumisprofiilide eelistatud teostusi, mis sisaldavad erinevate retseptoritega seondumise suurenemist, vähenemist või ei oma sellisele seondumisele mõju ning sellised muutused võivad olla teatud kontekstis soovitavad. Joonisel Fig 5 kujutatud retseptori sidumisprofiile saab täpsustatud retseptorite suhtes suurendada või vähendada. Lisaks võivad avaldatud sidumismuutused esineda täiendavate sidumismuutuste kontekstis muude retseptorite nagu C1q või FcRn suhtes, näiteks läbi liitumise C1q-ga koos sellega kaasneva seondumise kõrvaldamisega komplemendi aktiveerimise vältimiseks või läbi liitumise C1q-ga koos sellega kaasneva seondumise suurenemisega komplemendi aktiveerimise suurendamiseks. Võimalikud on ka muud teostused muude retseptori sidumisprofiilidega – näideteks on loetletud retseptori sidumisprofiilid.

Veel üheks parameetrik, mis siin kirjeldatud antikehade terapeutilist kasutusotstarvet mõjutab, on FcγR-de erinevate polümorfsete vormide esinemine. Kui antikeha spetsiifilisus ja selektiivsus FcγR-de erinevate klasside suhtes mõjutab antikeha võimet antud antigeeni antud haiguse ravimiseks töödelda, siis antikeha spetsiifilisus või selektiivsus nende retseptorite erinevate polümorfsete vormide suhtes võib omakorda määrata vajalikud uurimissuunad ja eelkliinilised katsed ning ravile reageerivad ja seega sobivad patsiendirühmad. Seega võib antikehade spetsiifilisust või selektiivsust Fc ligandi polümorfismide, k.a FcγR, C1q, FcRn ja FcRH polümorfismide suhtes kasutada kui juhust sobivate analüüside ja eelkliiniliste katsete valimiseks, kliinilise katse ülesehituseks, patsientide valikuks, doosi suuruse määramiseks ja/või muude kliinilisi katseid puudutavate asjaolude määramiseks.

25 Muud modifikatsioonid

Siin kirjeldatud antikehad võivad sisaldada ühte või rohkemat omadusi optimeerivat modifikatsiooni, mis ei ole efektorfunktsiooniga *per se* seotud. Nimetatud modifikatsioonideks võivad olla aminohappe modifikatsioonid või ensümaatilisel või keemiliselt sooritatud modifikatsioonid. Sellised modifikatsioonid tekitavad tõenäoliselt mõningase antikeha omaduste paranemise, näiteks selle stabiilsuse, lahustuvuse, funktsiooni või kliinilise kasutusotstarbe

paranemise. Kasutada võib mitmeid erinevaid täiustusi, mis sooritatakse läbi siin kirjeldatud antikehade liitmise täiendavate modifikatsioonidega.

Antikeha varieeruv piirkond võib olla kypse afiinsusega ehk antikeha VH ja/või VL domäänides on sooritatud aminohappe modifikatsioonid, mis parandavad antikeha seondumist selle märklaud-antigeeniga. Sellised modifikatsioonid võivad parandada assotsiatsiooni ja/või dissotsiatsiooni kineetikaid märklaud-antigeeniga seandumiseks. Muude sobilike modifikatsioonide näideteks on modifikatsioonid, mis parandavad võrreldes alternatiivsete märklaudadega selektiivsust märklaud-antigeeni suhtes. Need hõlmavad ka modifikatsioone, mis parandavad võrreldes märklauda mittesisaldavate rakkudega selektiivsust märklaual avaldatud antigeeni suhtes. Muud märklauda tuvastamisomaduste täiustused võib sisestada täiendavate modifikatsioonidega. Selliste omaduste näideteks on iseloomulikud kineetilised omadused (näiteks assotsiatsiooni ja dissotsiatsiooni kineetika), selektiivsus konkreetse märklauda suhtes võrreldes alternatiivsete märklaudadega ning selektiivsus märklauda iseloomuliku vormi suhtes võrreldes alternatiivsete vormidega. Näideteks on täispikad vs. splaiss-variantid, rakupinna vs. lahustuvad vormid, selektiivsus erinevate polümorfsete variantide või selektiivsus märklaud-antigeeni spetsiifiliste konformatsiooniliste vormide suhtes.

Siin kirjeldatud antikehad võivad sisaldada ühte või rohkemat modifikatsiooni, mis võimaldavad antikeha vähenenud või suurenenud internalisatsiooni. Antikehasid saab kasutada või liita täiendavate modifikatsioonidega, mis võimaldab antikeha tsellulaarse internalisatsiooni, mis omakorda esineb läbi interaktsiooni ühe või rohkema Fc ligandiga, vähendamist. Sellelt omaduselt võidakse oodata efektorfunktsiooni parandamist ja potentsiaalset käesoleva leiutise antikehade immunogeensuse vähendamist. Alternatiivina saab antikehasid kasutada või liita täiendavate modifikatsioonidega, mis võimaldab antikeha tsellulaarse internalisatsiooni, mis omakorda esineb läbi interaktsiooni ühe või rohkema Fc ligandiga suurendamist. Kasutada võib näiteks antikeha, mis võimaldab paremat seondumist FcγRI-ga, mida avaldatakse dendriitrakkudes ja mis aktiveeritakse immuunvastuse käigus varakult. Seda strateegiat saab täiustada läbi kombineerimise täiendavate modifikatsioonide, mis esinevad antikehas või kinnitatud fusioonpartneris või konjugaadis ning soodustavad Fc peptiidi

fragmentide äratundmist ja esitamist MHC molekulide poolt. Eeldatakse, et need strateegiad parandavad märklaudantigeeni töötlemist ja seeläbi märklaudantigeeni immunogeensust (Bonnerot ja Amigorena, 1999, *Immunol Rev.* 172: 279-84), soodustavad adaptiivset immuunvastust ning võimaldavad paremat

5 märklaudrakkude tapmist inimese immuunsüsteemi poolt. Need strateegiad võivad osutada eriti eelistatuteks, kui märklaudantigeen asub rakupinna all. Neid põhimõtteid saab kasutada ka idiotüüpilise vaktsiini immunoteraapiatega, kus patsiendi vaktsineerimiseks kasutatakse patsiendi lümfoomi rakkude poolt toodetud klooni spetsiifilisi antikehasid.

10 Antikehade biofüüsikaliste omaduste, k.a stabiilsuse, lahustuvuse ja oligomeerse oleku täiustamiseks saab teha modifikatsioone. Modifikatsioonide näideteks võivad olla asendused, mis tekitavad antikehas soodsamaid intramolekulaarseid interaktsioone (näiteks parema stabiilsuse saavutamiseks) või paljastatud mittepolaarsete aminohapete asendused parema lahustuvusega polaarsete

15 aminohapetega. Mitmeid optimeerimise eesmärke ja meetodeid on kirjeldatud USA patendis nr 2004/0110226 ja neid meetodeid saab kasutada antikehade täiendavaks optimeerimiseks sobivate täiendavate modifikatsioonide sooritamiseks. Antikehad saab liita ka täiendavate modifikatsioonidega, mis vähendavad oligomeerset olekut või suurust nii, et tuumori läbistamine paraneb

20 või *in vivo* kadumiskiirused suurenevad vastavalt vajadusele.

Muud antikehade modifikatsioonid hõlmavad modifikatsioone, mis võimaldavad homodimeersete või homomultimeersete molekulide iseloomulikku moodustumist. Selliste modifikatsioonide näideteks on geneetilisel muundatud disulfiidid, nagu ka keemilised modifikatsioonid või agregatsioonimeetodid, mis võimaldavad kujutada

25 endast mehhanismi kovalentsete homodimeeride või multimeeride valmistamiseks. Selliste molekulide valmistamismeetodeid ja koostisi on kirjeldatud näiteks Kan *et al.*, 2001, *J. Immunol.*, 2001, 166: 1320-1326; Stevenson *et al.*, 2002, *Recent Results Cancer Res.* 159: 104-12; USA patendis nr 5 681 566; Caron *et al.*, 1992, *J. Exp. Med.* 176: 1191-1195 ja Shopes, 1992, *J.*

30 *Immunol.* 148(9): 2918-22. Variantide täiendavate modifikatsioonide näideteks on modifikatsioonid, mis võimaldavad iseloomuliku koostise või heterodimeersete, heteromultimeersete, bifunktsionaalsete ja/või multifunktsionaalsete molekulide

valmistamist. Selliste modifikatsioonide näideteks on ühe või mitme aminohappe asendused CH3 domäänis, mis vähendavad homodimeeri moodustumist ja suurendavad heterodimeeri moodustumist. Selliste molekulide valmistamismeetodeid ja koostisi on kirjeldatud näiteks Atwell *et al.*, 1997, J. Mol. Biol. 270(1): 26-35 ja Carter *et al.* 2001, J. Immunol. Methods 248: 7-15. Täiendavateks modifikatsioonideks on ka hinge ja CH3 domäänide modifikatsioonid, mis vähendavad tendentsi dimeeride moodustamiseks.

Siin kirjeldatud antikehad võivad sisaldada ka proteolüütilisi degradatsioonipiirkondi eemaldavaid modifikatsioone. Selliste modifikatsioonide näideteks on proteaasi piirkonnad, mis vähendavad tootmissaagiseid, nagu ka manustatud valku *in vivo* lagundavad proteaasi piirkonnad. Modifikatsioone sooritatakse ka kovalentsete degradatsioonipiirkondade nagu deamidatsiooni (ehk glutaminüül- ja asparaginüüljääkide deamidatsioon vastavateks glutamüül- ja aspartüüljääkideks), oksüdatsiooni ja proteolüütilise degradatsiooni piirkondade eemaldamiseks. Eriti kasulik on eemaldada deamidatsiooni piirkonnad, millel on suurenenud kalduvus deamidatsiooniks, näiteks asparaginüül- ja glutamüüljäägid ning neile järgnevad glütsiinid (vastavalt NG ja QG motiivid). Sellistel juhtudel võib kummagi jäägi asendamine deamidatsiooni tendentsi oluliselt vähendada. Tavalisteks oksüdatsioonipiirkondadeks on metioniini ja tsüsteiini jäägid. Muud kovalentsed modifikatsioonid, mille sisestada või eemaldada saab, hõlmavad proliini ja lüsiini hüdroksüülimist; serüül- ja treonüüljääkide hüdroksüülrühmade fosforülatsiooni; lüsiini, arginiini ja histidiini kõrvalahelate alfa-aminorühmade metüülimist (Creighton, T.E., Proteins: Structure and Molecular Properties, W.H. Freeman & Co., San Francisco, USA, lk 79-86 (1983)); N-otsa amiini atsetüülimist ja mistahes C-otsa karboksüülrühma amideerimist. Täiendavad modifikatsioonid võivad, kuid ei pruugi, hõlmata ka translatsioonijärgseid modifikatsioone nagu N-aheldatud või O-aheldatud glükosülatsiooni ja fosforülatsiooni.

Modifikatsioonid võivad parandada bioloogiliste ainete tootmiseks tavaliselt kasutatavate peremeeste või peremeesrakkude ekspressiooni ja/või puhastamise saagiseid. Selliste peremeeste näideteks on erinevad imetaja rakuliinid (näiteks CHO), pärmi rakuliinid, bakterite rakuliinid ja taimed. Täiendavateks modifikatsioonideks on ka modifikatsioonid, mis eemaldavad või vähendavad

raskete ahelate võimet ahelavahelisi disulfiidaheldusi moodustada. Täiendavateks modifikatsioonideks on ka modifikatsioonid, mis eemaldavad või vähendavad raskete ahelate võimet ahelasiseseid disulfiidaheldusi moodustada.

Antikehad võivad sisaldada modifikatsioone, mis hõlmavad sünteetiliste aminohapete kasutamist, mis on liidetud näiteks tehnoloogiatega, mille on välja töötanud Schultz ja tema kolleegid; ning meetoditega, mida on kirjeldanud näiteks Cropp & Schultz, 2004, Trends Genet. 20(12): 625-30, Anderson *et al.*, 2004, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101(2): 7566-71, Zhang *et al.*, 2003, 303(5656): 371-3 ja Chin *et al.*, 2003, Science 301(5635): 964-7. Need modifikatsioonid võimaldavad manipuleerida erinevaid eelpool kirjeldatud funktsionaalseid, biofüüsikalisi, immunoloogilisi või tootmist mõjutavaid omadusi. Need modifikatsioonid võimaldavad täiendavat muudel eesmärkidel läbiviidavat keemilist modifikatsiooni. Käesolevasse leiutisse on kaasatud ka muud modifikatsioonid. Näiteks võib käesoleva leiutise antikeha aheldada mõne proteiinist erineva polümeeri nagu polüetüleenglükooli (PEG), propüleenglükooli, polüoksoalküleenide või polüetüleenglükooli ja polüpropüleenglükooli kopolümeeridega. Antikehade spetsiifilise või mittespetsiifilise keemilise või translatsioonijärgse modifikatsiooni võimaldamiseks võib sooritada täiendavad aminohappe modifikatsioonid. Selliste modifikatsioonide näideteks on PEGülatsioon ja glükosülatsioon, olemata samas nendega piiratud. PEGülatsiooni võimaldamiseks kasutatavate spetsiifiliste asenduste näideteks on uudsete tsüsteiinijääkide või sünteetiliste aminohapete sisestamine nii, et PEG või muu polümeerse fragmendi sisestamiseks saab kasutada efektiivseid ja spetsiifilisi liitmisvõtteid. Iseloomulike glükosülatsioonipiirkondade sisestamise võib saavutada läbi uute N-X-T/S järjestuste sisestamise antikehadesse.

Käesoleva leiutise antikehade kovalentsed modifikatsioonid võib sooritada pärast translatsiooni. Näiteks saab sisestada ühte molekuli antikeha mitu erinevat kovalentset modifikatsiooni, reageerides antikeha spetsiifilised aminohappejäägid orgaanilise deriveeriva ainega, mis on võimeline reageerima valitud kõrvalahelate või N- või C-otsa jääkidega.

Käesoleva leiutise antikehade kovalentne modifikatsioon võib hõlmata ühe või rohkema märgise lisamist. Mõiste „märgistusrühm“ tähistab iga tuvastavat märgist.

Märgistusrühma saab liita antikehaga potentsiaalse steerilise takistuse vähendamiseks erineva pikkusega vahetükkidega. Praktikas on teada erinevad meetodid valkude märgistamiseks ning neid kõiki saab käesolevas leiutises kasutada. Üldiselt jaotatakse märgised sõltuvalt analüüsist, kus neid kasutatakse, erinevatesse klassidesse: a) isotoopilised märgised, milleks võivad olla radioaktiivsed või rasked isotoobid; b) magnetilised märgised (näiteks magnetilised osakesed); c) redoks-aktiivsed fragmendid; d) optilised värvained, ensümaatilised rühmad (näiteks mädarõika peroksidaas, β -galaktosidaas, lutsiferaas, aluseline fosfataas); e) biotinüülitud rühmad; ja f) eelnevalt määratud polüpeptiidi epitoobid, mis tuvastatakse sekundaarse reporteriga (näiteks leutsiini-tõmbluku järjestused, sekundaarsete antikehade sidumispiirkonnad, metalli siduvad domäänid, epitoobi märgised jne). Märgistusrühma saab liita antikehaga potentsiaalse steerilise takistuse vähendamiseks erineva pikkusega vahetükkidega. Praktikas on teada erinevad meetodid valkude märgistamiseks ning neid kõiki saab käesolevas leiutises kasutada. Märgiste näideteks on optilised värvained nagu kromofoorid, fosfoorid ja fluorofoorid ja viimati mainitud on paljudel juhtudel spetsiifilised. Fluorofoorideks võivad olla „väikese molekuliga“ fluorid või proteiinipõhised fluorid. „Fluorestsentsmärgise“ all peetakse silmas iga molekuli, mille läbi selle omaste fluorestsentsomaduste tuvastada saab.

20 Antikeha konjugaadid ja fusioonid

Käesoleva leiutise antikehad võivad olla antikeha „fusioonvalkudeks“, mida mõnikord kutsutakse ka „antikeha konjugaatideks“. Fusioonpartner või konjugaat võib olla valgupõhine või mitte; viimasel juhul valmistatakse tavaliselt antikehal ja konjugaatpartneril olevaid funktsionaalrühmasid kasutades. Konjugaat- ja fusioonpartneriteks võivad olla kõik molekulid, k.a väikese molekuliga keemilised ühendid ja polüpeptiidid. Erinevaid antikeha konjugaate ja nende valmistamismeetodeid on kirjeldanud näiteks Trail *et al.*, 1999 teoses Curr. Opin. Immunol. 11:584-588. Võimalike konjugaatpartnerite näideteks on tsütokiinid, tsütotoksilised ained, toksiinid, radioisotoobid, kemoterapeutilised ained, antiangiogeneetilised ained, türosiini kinaasi inhibiitorid ja muud terapeutilised aktiivained. Konjugaatpartnereid võidakse pidada pigem transpordivahenditeks ehk konjugaadi eesmärgiks on konjugaatpartneri suunatud transport antikeha

- poolt märklaudrakku nagu kasvajakrakku või immuunrakku. Seega näiteks toksiini konjugatsioon antikehaga mõjutab nimetatud toksiini transporti märklaudantigeeni avaldavatesse rakkudesse. Eriala spetsialist mõistab, et tegelikult on fusiooni ja konjugaadi põhimõtted ja definitsioonid kattuvad. Antikeha tähistamine fusiooni või
- 5 konjugaadina ei ole mõeldud selle piiramiseks ühegi käesoleva leiutise konkreetse teostusega. Neid mõisteid kasutatakse pigem ulatuslikuma põhimõtte kokkuvõtmiseks, et iga käesoleva leiutise antikeha võib mõne soovitud omaduse saamiseks ühe või rohkema polüpeptiidi või molekuliga geneetiliselt, keemiliselt või muu meetodiga ühendada.
- 10 Sobivate konjugaatide näideteks on eelpool kirjeldatud määrgised, ravimid ning tsütotoksilised ained, näiteks tsütotoksilised ravimid (nagu kemoterapeutilised ained) või toksiinid või selliste toksiinide aktiivsed fragmendid. Sobivate toksiinide ja nende vastavate fragmentide näideteks on difteeria A ahel, eksotoksiini A ahel, ritsiini A ahel, abriini A ahel, kurtsiin, krotiin, fenomütsiin, enomütsiin jne.
- 15 Tsütotoksiliste ainete näideteks on ka radiokemikaalid, mis on valmistatud läbi radioisotoopide konjugeerimise antikehadega või radionukliidi sidumise kelaativa ainega, mis on kovalentselt antikeha külge kinnitatud. Täiendavates käesoleva leiutise teostustes rakendatakse kalitseamütsiini, arustatiini, geldanamütsiini, maitansiini ja duokarmütsiini ja nende analooge - lisateabe saamiseks viimati
- 20 mainitute kohta vaadake 2003/0050331.

- Käesoleva leiutise antikehad võivad olla tsütokiini külge sulatatud või konjugeeritud. Käesolevas leiutises peetakse tsütokiini all silmas geneerilisi valke, mis on vabastatud üherakulisest populatsioonist ja toimivad mõnel muul rakul intertsellulaarsete vahendajatena. Näiteks Penichet *et al.* on kirjeldanud (2001, J.
- 25 Immunol. Methods 248:91-101), et tsütokiinid võib soovitud omaduste järjestuse saamiseks antikeha külge sulatada. Selliste tsütokiinide näideteks on lümfokiinid, monokiinid ja traditsioonilised polüpeptiidi hormoonid. Tsütokiinide näideteks on ka kasvuhormoonid nagu inimese kasvuhormoon, N-metionüüli inimese kasvuhormoon ja veise kasvuhormoon; paratüroidi hormoon; türoksiin; insuliin;
- 30 proinsuliin; relaksiin; prorelaksiin; glükoproteiinide hormoonid nagu foliikuleid stimuleeriv hormoon (FSH), türoidi stimuleeriv hormoon (TSH) ja luteiniseeriv hormoon (LH); hepaatiline kasvufaktor; fibroblasti kasvufaktor; prolaktiin; platsenta

laktogeen; tuumori nekroosifaktorid alfa ja beeta; mülleriaani-inhibeeriv aine; hiire gonotropiiniga seonduv peptiid; inhibiin; aktiviin; veresoonte endoteliale kasvu faktor; integriin; trombopoietiin (TPO); närvi kasvufaktorid nagu NGF-beeta; trombotsüütide kasvufaktor; transformeerivad kasvufaktorid (TGF) nagu TGF-alfa ja TGF-beeta; insuliinisarnased kasvufaktorid I ja II; erütropoietiin (EPO); osteoinduktiivsed faktorid; interferoonid nagu interferoon-alfa, -beeta ja -gamma, kolooniaid stimuleerivad faktorid (CSF) nagu makrofaagi CSF (M-CSF); granulotsüüt-makrofaag-CSF (GMCSF); ja granulotsüüt-CSF (G-CSF); interleukiinid (IL) nagu IL-1, IL-1 alfa, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL9, IL-11, IL-12, IL-15; tuumori nekroosifaktorid nagu TNF-alfa või TNF-beeta; C5a; ja muud polüpeptiidi faktorid nagu LIF ja komplekti ligand (KL). Siin kasutatuna hõlmab mõiste tsütokiin nii looduslikult esinevaid kui ka rekombinantse rakukultuuri valke ja looduslikult esinevate järjestuste tsütokiinide bioloogiliselt aktiivseid ekvivalente.

15 Käesoleva leiutise antikehad võivad olla sulatatud, konjugeeritud või aheldatud operatiivselt toksini nagu väikese molekuliga või ensümaatilisel aktiivsete bakteriaalsete, taimsete või loomsete toksiinidega, k.a nende fragmentide ja/või variantidega. Erinevaid immunotoksiine ja immunotoksiinide kasutusmeetodeid on kirjeldanud Thrush *et al.*, 1996, Ann. Rev. Immunol. 14: 49-71. Väikese molekuliga toksiinide näideteks on kalihheamütsiin, maitansiin (USA patent nr 5 208 020), trikoteen ja CC1065. Käesoleva leiutise antikeha võib konjugeerida ühe või rohkema maitansiini molekuliga (näiteks umbes 1 kuni umbes 10 maitansiini molekuliga antikeha molekuli kohta). Maitansiini võib muuta näiteks May-SS-Me, mille võib taandada May-SH3 ja reageerida maitansinoidi-antikeha konjugaadi valmistamiseks modifitseeritud antikehaga (Chari *et al.*, 1992, Cancer Research 52: 127-131). Veel üks huvi pakkuv konjugaat koosneb ühe või rohkema kalihheamütsiini molekuliga konjugeeritud antikehast. Antibiootikumide kalihheamütsiini perekonna liikmed on võimelised tekitama subpikomolaarsetel kontsentratsioonidel kaheaheelalise DNA katkestusi. Kasutamiseks sobivate kalihheamütsiini struktuursete analoogide näideteks on γ_1^1 , α_2^1 , α_3 , N-atsetüül- γ_1^1 , PSAG ja Θ^1 , (Hinman *et al.*, 1993, Cancer Research 53: 3336-3342; Lode *et al.*, 1998, Cancer Research 58: 2925-2928) (USA patent nr 5 714 586; USA patent nr 5 712 374; USA patent nr 5 264 586; USA patent nr 5 773 001). Käesoleva leiutise

antikehade konjugaatidena võivad leida kasutamist ka dolastatiin 10 analoogid nagu auristatiin E (AE) ja monometüüllauristatiin E (MMAE) (Doronina *et al.*, 2003, Nat. Biotechnol. 21(7): 778-84; Francisco *et al.*, 2003 Blood 102(4): 1458-65). Kasulike ensümaatilistelt aktiivsete toksiinide näideteks on difteeria A ahel, difteeria
5 toksiooni mittesiduvad aktiivsed fragmendid, eksotoksiini A ahel (päribneb *Pseudomonas aeruginosa*´lt), ritsiini A ahel, abriini A ahel, modeksiini A ahel, alfa-sartsiin, *Aleurites fordii* valgud, dantiini valgud, *Phytolacca americana* valgud (PAPI, PAPII ja PAP-S), *Momordica charantia* inhibiitor, kurtsiin, krotiin, *Sapaonaria officinalis*´e inhibiitor, geloniin, mitogeliin, restriktotsiin, fenomütsiin,
10 enomütsiin ja trikotetseenid. Lisateabe saamiseks vaadake PCT WO 93/21 232. Käesolevasse leiutisse on kaasatud ka käesoleva leiutise antikeha ja nukleolüütilise aktiivsusega ühendi nagu ribonukleaasi või DNA endonukleaasi nagu deoksüribonukleaasi (DNAasi) vaheline konjugaat.

Käesoleva leiutise antikeha võib radiokonjugaadi valmistamiseks sulatada,
15 konjugeerida või operatiivselt radioisotoobiga aheldada. Radiokonjugaadi antikehade valmistamiseks on saadaval mitmeid erinevaid radioaktiivseid isotoope. Näideteks on At211, I131, I125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32 ja Lu radioaktiivsed isotoobid.

Käesoleva leiutise antikeha võib konjugeerida ka „retseptoriga“ (näiteks
20 streptavidiiniga), mis võimaldab sellise konjugaadi kasutamist tuumori eelravimiseks, manustades antikeha-retseptori konjugaadi patsiendile ja eemaldades seejärel seondumata konjugaadi vereringest eemaldusainet kasutades ning manustades lõpuks tsütotoksilise ainega (nagu radionukleotiidiga) konjugeeritud "ligandi" (näiteks avidiini). Antikeha võib konjugeerida ensüümiga
25 või ensüümiga operatiivselt aheldada antikehast sõltuva ensüümi vahendatud eelravimi teraapia (ADEPT) rakendamiseks. ADEPT-i võib kasutada läbi antikeha konjugeerimise või operatiivse aheldamise eelravimit aktiveeriva ensüümiga, mis muudab eelravimi (näiteks peptidüülipõhise kemoterapeutilise aine, vaadake PCT
30 WO 81/01145) aktiivseks kasvjavastaseks ravimiks. Lisateabe saamiseks vaadake PCT WO 88/07378 ja USA patenti nr 4 975 278. ADEPT-iks kasuliku immunoloogilise konjugaadi ensüümikomponent võib olla mistahes eelravimiks sobiv ensüüm, mille saab hiljem aktiivsemaks tsütotoksiliseks vormiks muuta.

Sellises meetodis kasulike ensüümide näideteks on aluseline fosfaataas, mis sobib fosfaati sisaldavate eelravimite muutmiseks vabadeks ravimiteks; arüülsulfataas, mis sobib sulfaati sisaldavate eelravimite muutmiseks vabadeks ravimiteks; tsütosiini deaminaas, mis sobib mittetoksilise 5-fluorotsütosiini muutmiseks

5 kasvavavastaseks ravimiks 5-fluorouratsiiliks; proteaasid nagu *Serratia* proteaas, termolüsiin, subtilisiin, karboksüpeptidaasid ja katepsiinid (näiteks katepsiinid B ja L), mis sobivad peptiidi sisaldavate eelravimite muutmiseks vabadeks ravimiteks; D-alanüülkarboksüpeptidaasid, mis sobivad D-aminohappe asendajaid sisaldavate eelravimite muutmiseks; süsivesikut lõhestavad ensüümid nagu beeta-

10 galaktosidaas ja neuramimidaas, mis sobivad glükosüülitud eelravimite muutmiseks vabadeks ravimiteks; beeta-laktamaas, mis sobib alfa-laktaamidega deriveeritud ravimite muutmiseks vabadeks ravimiteks; ja penitsilliini amidaasid nagu penitsilliini V amidaas või penitsilliini G amidaas, mis sobivad oma amiini lämmastikel vastavalt fenoksüatsetüül- või fenüülatssetüülrühmadega deriveeritud

15 ravimite muutmiseks vabadeks ravimiteks. Alternatiivina võib eelravimite muutmiseks vabadeks aktiivseteks ravimiteks kasutada ensümaatilise aktiivsusega antikehasid, mis on teada kui „absüümid“ (vaadake näiteks Massey, 1987, Nature 328: 457-458). Absüümi transpordiks tuumorirakkude populatsiooni võib valmistada antikeha-absüümi konjugaadid. Käesoleva leiutise antikehade

20 juures võib vaadelda ka muid täiendavaid konjugaate. Alljärgnevalt on kirjeldatud erinevaid kemoterapeutilisi aineid, antiangiogeenseid aineid, türosiini kinaasi inhibiitoreid ja muid terapeutilisi aineid, mida antikeha konjugaatidena kasutada saaks.

Käesolevasse leiutisse on kaasatud fusiooni ja konjugaadi partneritena ka Fc

25 polüpeptiidid. Seega võib antikehaks olla multimeerne Fc polüpeptiid, mis sisaldab kahte või rohkemat Fc piirkonda. Sellise molekuli eeliseks on mitme Fc retseptori sidumispirkonna tekitamine ühe valgu molekuliga. Fc piirkonnad võib aheldada keemilise töötlemisega. Näiteks Fab-d ja Fc-d võib aheldada tioetersidemetega, mis pärinevad hinge-piirkondades olevatest tsüsteiini jääkidest, saades seeläbi

30 molekulid nagu FabFc2. Fc piirkonnad võib aheldada disulfiidi töötlemise ja/või keemilise ristsidumisega. Fc piirkonnad võib siduda geneetiliselt. Antikeha Fc piirkonnad on aheldatud geneetiliselt loodud tandemaheldatud Fc piirkondadega nii, nagu on kirjeldatud USA patendis 2005/0249723, mis esitati 21. detsembril

2004 ja kannab pealkirja "Fc polypeptides with novel Fc ligand binding sites". Tandemaheldatud Fc polüpeptiidid võivad sisaldada kahte või rohkemat Fc piirkonda, sisaldades eelistatult ühte kuni kolme ja kõige eelistatumalt kahte Fc piirkonda. Homo- või hetero-tandemaheldatud antikehade, millel on kõige
5 sobivamad struktuursed ja funktsionaalsed omadused, valmistamiseks võib olla eelistatud erinevate geneetiliselt muudetud konstruktsioonide analüüsimine. Tandemaheldatud antikehad võivad olla homo-tandemaheldatud antikehad ehk ühe isotüübi antikeha on sulatatud geneetiliselt sama isotüübi mõne muu antikehaga. Kuna tandemaheldatud Fc polüpeptiididel on mitu FcR, C1q ja/või
10 FcRn sidumispiirkonda, eeldatakse, et efektorfunktsioonid ja/või farmakokineetika võivad olla paranenud. Ühe alternatiivses teostuses võivad erinevate isotüüpide antikehad olla tandemaheldatud ja selliseid antikehasid kutsutakse hetero-tandemaheldatud antikehadeks. Näiteks võime tõttu FcγR ja FcαRI retseptoreid blokeerida võib antikeha, mis seob nii FcγR-e kui ka FcαRI-e, tekitada
15 märkimisväärselt parema kliinilise tulemuse.

Lisaks antikehadele on üheks antikehasarnaseks valguks, mida järjest rohkem uuringutes ja ravis kasutatakse, Fc fusioon (Chamow *et al.*, 1996, Trends Biotechnol 14: 52-60; Ashkenazi *et al.*, 1997, Curr. Opin. Immunol. 9: 195-200). „Fc fusioon“ on siin kasutatuna sünonüümne varem kirjanduses kasutatud
20 mõistetega „immunoloogiline liimaine“, „lg fusioon“, „lg kimäär“ ja „retseptori globuliin“ (Chamow *et al.*, 1996, Trends Biotechnol. 14: 52-60; Ashkenazi *et al.*, 1997, Curr. Opin. Immunol. 9: 195-200). Fc fusiooniks on valk, kus üks või rohkem polüpeptiidi on operatiivselt Fc-ga aheldatud. Fc fusioon liidab antikeha Fc piirkonna ja seega selle soodsad efektorfunktsioonid ja farmakokineetilised
25 omadused retseptori, ligandi või mõne muu valgu või valgudomääni märklaua siduva piirkonnaga. Sellise omaduse eesmärgiks on märklaua määramist vahendada ja seega on see funktsionaalselt analoogne antikeha muutuva piirkonnaga. Fc fusioonide struktuurse ja funktsionaalse kattumise tõttu antikehadega laieneb käesoleva leiutise antikehade arutelu ka Fc-dele.

30 Fc fusiooni loomiseks võib Fc-ga liita põhimõtteliselt iga valgu või väikese molekuli. Valgu fusioonpartnerite näideteks on mistahes antikeha muutuv piirkond, retseptori märklaua siduv piirkond, adhesioonmolekul, ligand, ensüüm, tsütokiin,

kemokiin või mõni muu valk või valgu domään. Väikese molekuliga fusioonpartneriteks võivad olla kõik terapeutilised ained, mis Fc fusiooni terapeutilise märklauaga suunavad. Sellisteks märklaudadeks võivad olla kõik molekulid ja eelistatult ekstratsellulaarsed retseptorid, mis mõnes haiguses osalevad.

Fusiooni ja konjugaadi partnerid võib aheldada käesoleva leiutise antikeha mistahes piirkonna, k.a N- või C-otstega, või mõne otste vahelise jäägiga. Fusiooni või konjugaadi partneri võib aheldada antikeha N- või C-otsaga ja kõige eelistatumalt N-otsaga. Käesolevas leiutises võib antikehade kovalentseks aheldamiseks fusiooni või konjugaadi partneriga kasutada erinevaid linkereid. „Linker“, „linkerjärjestus“, „vahetükk“, „kitsendav järjestus“ või nende grammatilised vormid tähistavad molekuli või molekulide rühma (näiteks monomeeri või polümeeri), mis ühendab kaks molekuli ja mille eesmärgiks on sageli kahe molekuli paigutamine eelistatud konfiguratsiooni. Linkerid on praktikas teada; näiteks homo- või heterobifunktsionaalsete linkerite kasutus on laialt levinud (vaadake 1994 Pierce Chemical Company kataloog, ristlinkerite tehniline osa, lk 155-200). Molekulide kovalentseks kokkuliitmiseks võib kasutada erinevaid strateegiaid. Selliste strateegiate näideteks on polüpeptiidi aheldused valkude või valgu domäänide N- ja C-otste vahel, aheldus läbi disulfiidsidemete ja aheldus läbi keemiliste ristsiduvate reaktiivide. Ühes selle teostuse aspektis on linkeriks peptiidside, mis on loodud läbi rekombinantsete tehnikate või peptiidi sünteesi. Linker võib sisaldada paindlikkust suurendavaid aminohappejääke. Seega võib linkerpeptiid sisaldada peamiselt järgnevaid aminohappejääke: Gly, Ser, Ala või Thr. Linkerpeptiid peaks olema piisavalt pikk kahe molekuli piisavaks aheldamiseks viisil, mis võimaldab säilitada nendevahelist korrektset konformatsiooni ja soovitud aktiivsust. Selles teostuses on sobivaks pikkuseks vähemalt 1 kuni 50 aminohappejääki. Eelistatult on linkeri pikkuseks umbes 1 kuni 30 aminohapet ning kõige eelistatumateks linkeriteks on 1 kuni 20 aminohappe pikkused linkerid. Kasulikeks linkeriteks on glütsiini-seriini polümeerid (näiteks (GS)_n, (GSGGS)_n (GGGGS)_n ja (GGGS)_n, kus n on täisarv, mis on suurem-võrdne ühega), glütsiini-alaniini polümeerid, alaniini-seriini polümeerid ja muud paindlikud linkerid, mis on eriala asjatundjale teada. Alternatiivina võib käesoleva leiutise antikehade aheldamisel fusiooni või konjugaadi partneriga või käesoleva

leiutise antikehade aheldamisel konjugaadiga kasutada linkerina erinevaid valgust erinevaid polümeere nagu polüetüleenglükooli (PEG), polüpropüleenglükooli, polüoksüalküleene või polüetüleenglükooli ja polüpropüleenglükooli kopolümeere.

Antikehade valmistamine

5 Käesolevas peatükis kirjeldatakse meetodeid antikehade valmistamiseks ja analüüsimiseks. Avaldatud meetodid on mõeldud üldiseks näitlikustamiseks, et variantantikehade saamiseks võib luua ja eksperimentaalselt analüüsida ühte või mitut antikeha. Antikehade molekulaarbioloogia, ekspressiooni, puhastamise ning analüüsimise üldmeetodeid on kirjeldatud teostes Antibody Engineering, 10 toimetajad Duebel & Kontermann, Springer-Verlag, Heidelberg, 2001; ja Hayhurst & Georgiou, 2001, Curr. Opin. Chem. Biol. 5: 683-689; Maynard & Georgiou, 2000, Annu. Rev. Biomed. Eng. 2:339-76; Antibodies: A Laboratory Manual by Harlow. Valmistada saab käesoleva leiutise antikehasid kodeerivad nukleiinhapped, mille võib seejärel soovi korral peremeesrakkudesse kloonida, 15 seal avaldada ning analüüsida. Seeläbi võib valmistada iga valgujärjestust kodeerivad nukleiinhapped ja täpsemalt DNA. See sooritatakse teadaolevate protseduuridega. Erinevaid kasutamiseks sobivaid meetodeid on kirjeldatud näiteks Molecular Cloning - A Laboratory Manual, III trükk, (Maniatis, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA 2001) ja Current Protocols in Molecular 20 Biology (John Wiley & Sons). Eriala spetsialistid mõistavad, et suurt hulka järjestusi sisaldava panga valmistamine võib osutada kalliks ja aeganõudvaks. „Panga“ all mõeldakse siin mistahes järjestusvormide variantide komplekti, näiteks nukleiinhappe- või aminohappejärjestuste komplekti, erinevatel positsioonidel toimunud nukleiinhappe või aminohappe asenduste komplekti, panga järjestusi 25 kodeerivaid nukleiinhappeid sisaldavat füüsilist panka või puhastatud või puhastamata variantvalke sisaldavat füüsilist panka. Seega saab pankade efektiivseks loomiseks kasutada erinevaid tehnikaid. Kasutamiseks sobivaid meetodeid on kirjeldatud või mainitud näiteks USA patendis nr 6 403 312, USA patendis nr 2002/0048772, USA patendis nr 2002/0090648, USA patendis nr 30 2003/0130827, PCT WO 01/40091 ja PCT WO 02/25588. Selliste meetodite näideteks on geeni valmistamise meetodid, PCR-põhised meetodid ja PCR variatsioone rakendavad meetodid, ligaasi ahelreaktsiooni põhised meetodid,

liidetud oligomeetodid (näiteks sünteetilise segamise käigus kasutatavad meetodid), veaaldid amplifikatsioonimeetodid, randomiseeritud mutatsioonidega oligoid rakendavad meetodid, klassikalised piirkonnale suunatud mutageneesi meetodid, kassett-mutagenees ja muud amplifikatsiooni ning geenisünteesi meetodid. Nagu on praktikas teada, saab geenide valmistamiseks, mutageneesiks, vektorite alamkloonimiseks jne kasutada erinevaid müügil olevaid komplekte ja meetodeid ning selliseid müügil olevaid tooteid saab kasutada ka käesolevas leiutises antikehasid kodeerivate nukleiinhapete valmistamiseks.

Käesoleva leiutise antikehad võib valmistada, kultuuristades peremeesraku, mis on transformeeritud nukleiinhappe ja eelistatult antikehasid kodeerivat nukleiinhapet sisaldava ekspressioonivektoriga, sobivatel tingimustel, mis võimaldavad valgu ekspressiooni tekitada või põhjustada. Ekspressiooniks sobivad tingimused varieeruvad sõltuvalt ekspressioonivektori ja peremeesraku valikust ning on eriala asjatundja poolt tavapärase eksperimenteerimisega kergesti määratavad. Kasutada võib hulgaliselt erinevaid peremeesrakke, näiteks imetajarakke, baktereid, putukarakke, pärmirakke jne. Erinevaid rakuliine, mida käesolevas leiutises kasutada saab, on kirjeldatud näiteks ATCC® rakuliini kataloogis, mis on saadaval asutusest American Type Culture Collection.

Antikehasid võib avaldada imetaja ekspressioonisüsteemides, k.a süsteemides, kus ekspressiooni konstruktsioonid sisestatakse imetaja rakkudesse viiruse nagu retro- või adenoviirusega. Kasutada võib iga imetaja rakke, samas kui eriti eelistatud on inimese, hiire, roti, hamstri ja primaadi rakkude kasutamine. Sobivateks rakkudeks on ka teadaolevad uuringurakud nagu Jurkati T-rakud, NIH3T3, CHO, BHK, COS, HEK293, PER C.6, HeLa, Sp2/0, NSO rakud ja nende variandid. Panga valgud võidakse avaldada bakterirakkudes. Bakteriaalsed ekspressioonisüsteemid on teada, näiteks *Escherichia coli* (*E. coli*), *Bacillus subtilis*, *Streptococcus cremoris* ja *Streptococcus lividans*. Antikehad võidakse valmistada putukarakkude (näiteks Sf21/Sf9, *Trichoplusia ni* Bti-Tn5b1-4) või pärmirakkudega (näiteks *S. cerevisiae*, *Pichia* jne). Antikehad võidakse avaldada *in vitro* raku vaba translatsioonisüsteeme kasutades. Saadaval on nii prokarüootsetest (näiteks *E. coli*) kui ka eukarüootsetest (näiteks nisuidudest, küüliku retikulotsüütidest) rakkudest valmistatud *in vitro* translatsioonisüsteemid ja

nende valik võib põhineda huvi pakkuva valgu ekspressioonitasemetel ja funktsionaalsetel omadustel. Näiteks eriala asjatundjale on teada, et mõningates displei tehnoloogiates nagu ribosoomi displeis on vajalik *in vitro* translatsioon. Lisaks võib antikehad valmistada keemilise sünteesi meetoditega. Kasutada võib

5 ka transgeenseid ekspressioonisüsteeme, mis pärinevad nii loomadelt (näiteks lehma, lamba või kitse piimast, embrüoga kanamunadest, putukavastetest jne) kui ka taimedelt (näiteks maisist, tubakast, lemmelist jne).

Nõudluspunktides defineeritud käesoleva leiutise antikehade raske ahela järjestust ja kerge ahela järjestust kodeerivad nukleiinhapped võib liita valgu avaldamiseks

10 ekspressioonivektorisse. Valgu ekspressiooniks võib kasutada erinevaid ekspressioonivektoreid. Ekspressioonivektorid võivad sisaldada isereplitseeruvaid ekstrakromosomaalseid vektoreid või peremehe genoomi integreeruvaid vektoreid. Ekspressioonivektori valmistatakse peremeesraku tüübiga ühilduvatena. Seega on ekspressioonivektoreid, mida käesolevas leiutises kasutada saab, näideteks

15 vektorid, mis võimaldavad valgu ekspressiooni imetaja rakkudes, bakterites, putukarakkudes, pärmis ja *in vitro* süsteemides. Teada on mitmed müügil olevad või muud ekspressioonivektorid, mida käesolevas leiutises antikehade avaldamiseks kasutada saab.

Ekspressioonivektorid sisaldavad tavaliselt valku, mis on aheldatud operatiivselt

20 kontroll- või reguleerivate järjestuste, valitavate markerite, võimalike fusioonvalkude ja/või täiendavate elementidega. „Operatiivse ahelduse“ all mõeldakse, et nukleiinhape on funktsionaalses sidemes mõne muu nukleiinhappejärjestusega. Üldiselt hõlmavad need ekspressioonivektorid transkriptsioonilisi ja translatsioonilisi reguleerivaid nukleiinhappeid, mis on

25 aheldatud operatiivselt antikeha kodeeriva nukleiinhappega ning sobivad tavaliselt valgu avaldamiseks kasutatud peremeesrakuga. Üldiselt võivad need transkriptsioonilised ja translatsioonilised reguleerivad järjestused sisaldada promootorjärjestusi, ribosoomi sidumiskiirkondi, transkriptsiooni algus- ja lõppjärjestusi, translatsiooni algus- ja lõppjärjestusi ning võimendus- või

30 aktiveerimisjärjestusi. Praktikas on samuti teada, et ekspressioonivektorid sisaldavad tavaliselt selektsioonigeeni või markerit, mis võimaldab

ekspressioonivektorit sisaldavate transformeeritud peremeesrakkude selektsiooni. Selektsoonigeenid on teada ning erinevad sõltuvalt kasutatud peremeesrakust.

Antikehad võib aheldada operatiivselt fusioonpartneriga, et võimaldada avaldatud valgu blokeerimist, puhastamist, analüüsimist, avaldamist jne. Fusioonpartnerid

5 võib aheldada antikeha järjestusega läbi linkerjärjestuste. Linkerjärjestus sisaldab tavaliselt vähesel määral aminohappeid (tavaliselt vähem kui kümme), kuid samas võib kasutada ka pikemaid linkereid. Tavaliselt valitakse linkerjärjestusteks järjestused, mis on paindlikud ja degradatsioonikindlad. Eriala asjatundjad mõistavad samuti, et linkeritena võib kasutada iga vastavat järjestust. Näiteks üks

10 sageli kasutatav linkerjärjestus sisalda aminohappejärjestust GGGGS. Fusioonpartneriks võib olla suunav järjestus või signaaljärjestus, mis suunab antikeha ja iga seonduva fusioonpartneri soovitud tsellulaarsesse asukohta või ekstratsellulaarsesse keskkonda. Praktikas on teada, et mõningad signalisatsioonijärjestused võivad mõjutada valgu eritamist kasvusöötmesse või

15 periplasmilisse ruumi, mis asub raku sisemise ja välimise membraani vahel. Fusioonpartneriks võib olla ka järjestus, mis kodeerib puhastamist ja/või analüüsimist võimaldavat peptiidi või valku. Selliste fusioonpartnerite näideteks on polühistidiini märgised (His-märgised) (näiteks H6 või H10 või muud märgised, mis sobivad kasutamiseks immobiliseeritud metalli aafiinsuskromatograafia (IMAC)

20 süsteemidega (näiteks Ni⁺² aafiinsuskolonnid)), GST fusioonid, MBP fusioonid, Strep-märgis, bakteriaalse ensüümi BirA BSP biotinüülitud märklaudjärjestus ja antikehade märklaudadeks olevad epitoommärgised (näiteks c-myc märgised, flag-märgised jne). Eriala asjatundja mõistab, et sellised märgised võivad osutada kasulikuks puhastamisel, analüüsimisel või mõlemal. Näiteks võib antikeha

25 puhastada His-märgisega, immobiliseerides selle Ni⁺² aafiinsuskolonnile ning pärast puhastamist võib sama His-märgist kasutada antikeha immobiliseerimiseks Ni⁺² kaetud plaadile ELISA või mõne muu sidumisanalüüsi (vt. allpool) läbiviimiseks. Fusioonpartner võib võimaldada selektsioonimeetodi kasutamist antikehade analüüsimiseks (vt. allpool). Erinevates selektsioonimeetodites kasutust leidvad

30 fusioonpartnerid on praktikas teada ning neid kõiki saab käesolevas leiutises kasutada. Näiteks antikeha panga liikmete sulatamisega geen III valgu külge saab kasutada faagi displeid (Kay *et al.*, Phage display of peptides and proteins: a laboratory manual, Academic Press, San Diego, CA, USA, 1996; Lowman *et al.*,

1991, Biochemistry 30: 10832-10838; Smith, 1985, Science 228: 13315-1317). Fusioonpartnerid võivad võimaldada antikehade märgistamist. Alternatiivina võib fusioonpartneri siduda ekspressioonivektori iseloomuliku järjestusega, võimaldades fusioonpartneri ja seonduva antikeha kovalentset või mittekovalentset sidumist neid kodeeriva nukleiinhappega.

Meetodid eksogeensete nukleiinhapete sisestamiseks peremeesrakkudesse on teada ning nende valik sõltub kasutatud peremeesrakust. Tehnikate näideteks on dekstraani vahendatud transfektsioon, kaltsiumfosfaadi sadestamine, kaltsiumkloriidiga töötlemine, polübreeni vahendatud transfektsioon, protoplasti fusioon, elektroporatsioon, viiruse või faagiga infektsioon, polünukleotiidi(de) kapseldamine liposoomidesse ja DNA otsene mikroinjektsioon tuuma. Imetaja rakkude korral võib transfektsioon olla põgus või stabiilne. Antikehad võib pärast ekspressiooni puhastada või eraldada. Valgud võib eraldada või puhastada erinevate teadaolevate meetoditega. Standardsete puhastusmeetodite näideteks on kromatograafilised tehnikad, k.a ionvahetus, hüdrofoobne interaktsioon, afiinsuse, suuruse või geeli põhine filtreerimine ja pöördfaasi kromatograafia, mis sooritatakse atmosfäärirõhu või kõrgrõhu all süsteeme nagu FPLC ja HPLC kasutades. Puhastusmeetodites kasutatakse ka elektroforeetilisi, immunoloogilisi, sadestamise, dialüüsi ja kromatofokusseerimise tehnikaid. Kasulikud on ka ultrafiltreerimise ja diafiltreerimise tehnikad, mida kasutatakse koos valgu kontsentreerimisega. Teada on, et erinevad looduslikult leiduvad valgud seovad Fc-d ja antikehasid ning selliseid valke saab kasutada käesolevas leiutises antikehade puhastamiseks. Näiteks bakteriaalsed valgud A ja G seonduvad Fc piirkonnaga. Bakteriaalne valk L seondub mõningate antikehade Fab piirkonnaga ja seda teeb loomulikult ka antikeha märklaud-antigeen. Sageli võimaldatakse puhastamist läbi konkreetse fusioonpartneri. Antikehad võib puhastada näiteks GST fusiooni korral glutatiooni vaiguga, His-märgise kasutamisel Ni^{+2} afiinsuskromatograafiaga või flag-märgise korral immobiliseeritud anti-flag antikehaga. Sobivate puhastustehnikate üldine ülevaade on avaldatud näiteks teoses Protein Purification: Principles and Practice, III trükk, Scopes, Springer-Verlag, NY, USA, 1994. Vajalik puhastustase erineb sõltuvalt analüüsist või antikehade kasutamiststarbest. Mõningatel juhtudel ei osutu puhastamine vajalikuks. Näiteks ühes teostuses võib juhul, kui antikehad on saadud läbi

sekretsiooni, toimuda analüüsimine otse keskkonnast. Nagu on praktikas teada, ei hõlma mõned valikumeetodid valkude puhastamist. Kui näiteks antikehade pank muudetakse faagi displei pangaks, siis valgu puhastamist ei pruugita sooritada.

In vitro eksperimenteerimine

- 5 Antikehasid võib analüüsida erinevate meetoditega, näiteks *in vitro* analüüse, *in vivo* ja rakupõhiseid analüüse ning selektsioonitehnikaid rakendavate meetoditega. Analüüsimisprotseduurides võidakse kasutada automatiseeritud ja suure võimsusega analüüsimistehnoloogiaid. Analüüsimisel võidakse rakendada ka fusioonpartnerit või märgist. Fusioonpartnerite kasutamist on kirjeldatud eelpool. „Märgistatuse“ all peetakse silmas, et käesoleva leiutise antikehade külge
- 10 võib analüüsi käigus tuvastamise võimaldamiseks kinnitada ühe või mitu elementi, isotoopi või keemilist ühendit. Üldiselt jagunevad märgised kolme klassi: a) immuunmärgised, milleks võivad olla antikeha poolt ära tuntavatesse fusioonpartneritesse liidetud epitoobid; b) isotoopsed märgised, milleks võivad olla
- 15 radioaktiivsed või rasked isotoobid; ja c) väikese molekuliga märgised, milleks võivad olla fluorestsentsi ja kolorimeetrilised värvained või molekulid nagu biotiin, mis võimaldavad muude märgistusmeetodite kasutamist. Märgised võib lisada ühendisse igal positsioonil ning liita valgu ekspressiooni käigus *in vitro* või *in vivo*.

- Antikehade funktsionaalseid ja/või biofüüsikalisi omadusi analüüsitakse *in vitro* analüüsiga. *In vitro* analüüsid võivad võimaldada huvi pakkuvate omaduste laia
- 20 dünaamilist analüüsimisulatust. Analüüsida võib antikehade omadusi nagu stabiilsust, lahustuvust ja afiinsust Fc ligandite, näiteks FcγR-de suhtes. Kui soovitakse analüüsida mitut omadust, võib nende analüüsimine toimuda samaaegselt või eraldi. Valgud võivad olla sõltuvalt analüüsi tingimustest
- 25 puhastatud või puhastamata. Analüüsiks on kvalitatiivne või kvantitatiivne sidumisanalüüs antikehade seondumise määramiseks valgu või muu molekuliga, mis teatakse või arvatakse antikeha siduvat. Analüüsiks on sidumisanalüüs, mida kasutatakse märklaudantigeeniga seondumise mõõtmiseks. Analüüsiga võidakse määrata ka antikehade seondumine Fc ligandiga, mille näideteks on FcγR-de
- 30 perekond, vastsündinu retseptori FcRn, komplemendi valk C1q ja bakteriaalsed valgud A ja G. Nimetatud Fc ligandid võivad pärineda mistahes organismilt kuid eelistatult pärinevad need inimestelt, hiirtelt, rottidelt, küülikutelt ja ahvidelt.

Sidumisanalüüsid saab sooritada erinevate teadaolevate meetoditega, mille näideteks on FRET (fluorestsentsresonantsi energiaülekanne) ja BRET (bioluminestsentsi resonantsi energiaülekanne)-põhised analüüsid, AlphaScreen™ (amplifitseeritud luminesentsi läheduse homogeenne analüüs), stsintillatsiooni lähedusanalüüs, ELISA (ensüümne immunosorbenttest), SPR (pinna plasmonresonants, teada ka kui Biacore™), isotermilise tiitrimise kalorimeetria, diferentsiaalne skaneeriv kalorimeetria, geelelektroforees ja geelfiltreerimisega kromatograafia. Need ja muud meetodid võivad rakendada mõnda antikeha fusioonpartnerit või antikeha märgist. Analüüsides võidakse kasutada erinevaid tuvastusmeetodeid, näiteks kromogeenseid, fluorestsentsi põhiseid, luminesentsi põhiseid või isotoopseid märgiseid.

Antikehade biofüüsikalisi omadusi nagu stabiilsust ja lahustuvust saab analüüsida erinevate teadaolevate meetoditega. Valgu stabiilsuse võib määrata, mõõtes pakitud ja pakkimata olekute vahelise termodünaamilise tasakaalu. Käesoleva leiutise antikehade lahti pakkimiseks võib kasutada näiteks keemilisi denatureerivaid aineid, kuumust või pH-d ning seda siiret saab jälgida meetodite nagu tsirkulaarse dikroismi spektroskoopia, fluorestsentspektroskoopia, neelduvusspektroskoopia, NMR spektroskoopia, kalorimeetria ja proteolüüsiga. Eriala asjatundjad mõistavad, et neid ja muid tehnikaid võib kasutada ka pakkimise ja lahtipakkimise siirete kineetiliste parameetrite jälgimiseks. Antikeha lahustuvuse ja üldise struktuurse terviklikkuse võib määrata kvantitatiivselt või kvalitatiivselt erinevaid teadaolevaid meetodeid kasutades. Meetodite, mida käesolevas leiutises antikehade biofüüsikaliste omaduste iseloomustamiseks kasutada võib, näideteks on geelelektroforees, isoelektriline fokuseerimine, kapillaarne elektroforees, kromatograafiad nagu suurust välistav kromatograafia, ionvahetuse kromatograafia ja pöördfaasi kõrgefektiivne vedelikkromatograafia, peptiidi kaardistamine, oligosahhariidi kaardistamine, massispektromeetria, ultravioletvalguse neelduvuse spektroskoopia, fluorestsentspektroskoopia, tsirkulaarse dikroismi spektroskoopia, isotermilise tiitrimise kalorimeetria, diferentsiaalne skaneeriv kalorimeetria, analüütiline ultratsentrifuugimine, dünaamiline valguse hajumine, proteolüüs ja ristsidumine, hägususe mõõtmine, filtrisse jäämise analüüsid, immunoloogilised analüüsid, fluorestsentsvärvaine sidumisanalüüsid, proteiini värvimisanalüüsid, mikroskoopia ja agregaatide

- määramine ELISA või muu sidumisanalüüsiga. Kasutamist võivad leida ka struktuuri analüüsid, kus rakendatakse röntgenkristallograafia tehnikaid, ja NMR spektroskoopia. Stabiilsuse ja/või lahustuvuse võib mõõta, määrares pärast määratud aja möödumist valgu lahuse koguse. Selles analüüsis võidakse valk viia
- 5 ekstreemsetesse tingimustesse, näiteks kõrged temperatuurid, madal pH või denatureeriva aine juuresolek. Kuna funktsioon nõuab tavaliselt stabiilset, lahustuvat ja/või hästi pakitud/struktureeritud valku, võivad eelnevalt mainitud funktsionaalsed ja sidumise analüüsid kujutada endast ka meetodeid sellise mõõtmise sooritamiseks. Näiteks võib analüüsida antikeha siduva lahuse võimet
- 10 märklaudantigeeni siduda ning seejärel viiakse lahus üheks või mitmeks määratud pikkusega perioodiks kõrgendatud temperatuuriga keskkonda ning sellele järgneb uuesti antigeeni sidumise analüüs. Kuna pakkimata ja koondunud valku ei peeta antigeeni võimeliseks antigeeni siduma, kujutab alles jäänud aktiivsuse kogus endast antikeha stabiilsuse ja lahustuvuse mõõdet.
- 15 Panka analüüsitakse ühe või mitme rakupõhise või *in vitro* analüüsiga. Sellisteks analüüsideks lisatakse puhastatud või puhastamata antikehad tavaliselt eksogeenselt nii, et rakud viiakse kontakti pankka kuuluvate individuaalsete variantide või variantide rühmadega. Need analüüsid põhinevad tavaliselt, kuid mitte alati, antikeha antigeeniga seondumise võimel ja võimel mõnda biokeemilist
- 20 sündmust nagu efektori funktsioone, näiteks tsellulaarset lahustamist, fagotsütoosi, ligandi/retseptori sidumise inhibeerimist, kasvu ja/või proliferatsiooni inhibeerimist, apoptoosi jne vahendada. Sellised analüüsid hõlmavad sageli rakkude antikehaga kokkupuutumisel tekkiva reaktsiooni jälgimist ja selliseks reaktsiooniks võib olla rakkude ellujäämisvõime, rakusurm, tsellulaarne
- 25 fagotsütoos, rakkude lahustumine, tsellulaarse morfoloogia muutused või transkriptsiooniline aktiveerimine nagu looduslikult esineva geeni või reportergeeni tsellulaarne ekspressioon. Selliseid analüüse võib kasutada näiteks antikehade võime mõõtmiseks ADCC, ADCP või CDC-d põhjustada. Mõningates analüüsides võib osutada vajalikuks täiendavate rakkude või komponentide lisamine lisaks
- 30 märklaudrakkudele - näiteks võidakse lisada seerumi komplement või efektorrakud nagu perifeersed vere monotsüüdid (PBMC-d), NK rakud, makrofaagid jne. Sellised täiendavad rakud võivad pärineda igast organismist, eelistatult inimestelt, hiirtelt, rottidelt, küülikutelt ja ahvidelt. Ristseotud või monomeersed antikehad

võivad põhjustada mõningate antikeha märklaudantigeeni avaldavate rakuliinide apoptoosi või vahendada analüüsile lisatud immuunsüsteemi rakkude rünnakut märklaudrakkudele. Meetodid rakusurma või eluvõime jälgimiseks on praktikas teada ning hõlmavad värvainete, fluorofooride, immunokeemiliste reaktiivide, tsütokeemiliste reaktiivide ja radioaktiivsete reaktiivide kasutamist. Näiteks kaspasi analüüsid või anneksiini-fluori konjugaadid võivad võimaldada apoptoosi mõõtmist ja radioaktiivsete substraatide omastamist või vabastamist (näiteks kroom-51 vabanemise analüüsid) või fluorestsentsvärvainete metaboolset reduktsiooni - näiteks alamar võib võimaldada rakukasvu, proliferatsiooni või aktiveerimise mõõtmist. Kasutatakse DELFIA® EuTDA-põhist tsütotoksilisuse analüüsi (Perkin Elmer, MA, USA). Alternatiivina võib vaadelda surnud või kahjustatud märklaudrakkude hulka, mõõtes selleks ühe või rohkema looduslikult esineva intratsellulaarse valgu nagu laktaadi dehüdrogenaasi vabanemise. Ühes funktsiooni analüüsimise meetodiks rakupõhistes analüüsides võib olla transkriptsiooniline aktiveerimine. Sellisel juhul võidakse reageeringut jälgida, analüüsides üle- või alareguleeritavaid looduslikult esinevaid geene või valke, näiteks teatud interleukiinide vabanemist - alternatiivina võib lugemiks olla lutsiferaasi või GFP-reporteri konstruktsioon. Rakupõhised analüüsid võivad hõlmata ka rakkude morfoloogiliste muutuste mõõtmist reaktsioonina antikeha juuresolekule. Sellistes analüüsides kasutatavateks rakutüüpideks võivad olla prokarüootsed või eukarüootsed rakud ning kasutada võib erinevaid teadaolevaid rakuliine. Alternatiivina sooritatakse rakupõhised analüüsid rakkudega, mis on transformeeritud või transfekteeritud antikehasid kodeerivate nukleiinhapetega.

In vitro analüüside näideteks on sidumisanalüüsid, ADCC, CDC, fagotsütoosi, tsütotoksilisuse, proliferatsiooni, apoptoosi, nekroosi, rakutsükli peatamise, peroksidaasi/osooni vabastamise ja efektorrakkude kemotaksise analüüsid ning selliste analüüside inhibeerimine vähenenud efektorfunktsiooniga antikehadega: aktiivsuse vahemikud nagu >100x suurenemine või >100x vähenemine, retseptori aktiveerimise ja selliste retseptori profiilide eeldatud tulemuste kombinatsioonid jne.

In vivo analüüsid

Käesoleva leiutise antikehade bioloogilisi omadusi võib iseloomustada rakkude, kudede ja organismide eksperimentidega. Nagu on praktikas teada, testitakse ravimeid sageli esmalt loomadel nagu hiirtel, rottidel, küülikutel, koertel, kassidel, sigadel ja ahvidel, et mõõta ravi efektiivsust haiguse või haiguse mudeli vastu või ravimi farmakokineetika, toksilisuse ja muude omaduste mõõtmiseks. Nimetatud loomasid võidakse kutsuda haiguse mudeliteks. Käesoleva leiutise antikehade korral esineb probleeme loomudeliste kasutamisel võimalike polüpeptiidide potentsiaalsete toimete hindamiseks inimestel - see on tingitud vähemalt osaliselt faktist, et antikehadel, millel on spetsiifiline toime inimese Fc retseptori afiinsusele, puudub sarnane afiinsust mõjutav toime ortoloogsel looma retseptoril. Neid probleeme võidakse võimendada vältimatu kahetähenduslikkusega, mis seondub õigete ortoloogide õige paigutusega (Mechetina *et al.*, Immunogenetics, 2002 54:463-468) ja faktiga, et mõningaid ortolooge lihtsalt ei esine loomadel (näiteks inimestel on FcγRIIIa olemas, samas kui hiirtel see puudub). Ravimite analüüsimisel kasutatakse sageli hiiri, k.a karvadeta hiiri, SCID hiiri, ksenotransplantaadiga hiiri ja transgeenseid hiiri (k.a geenide lisamised ja välistamised). Näiteks käesoleva leiutise antikeha, mis on mõeldud kasutamiseks kasvajakasvatuse ravimina, võidakse analüüsida hiire kasvaja mudelis, näiteks ksenotransplantaadiga hiirtel. Selles meetodis siirdatakse või sisestatakse tuumor või tuumori rakuliini hiirde ja seejärel ravitakse hiirt analüüsitava ravimiga, määrates seeläbi antikeha võime kasvaja kasvu ja metastaasi vähendada. Alternatiivseks meetodiks on SCID hiire mudeli kasutamine, kus immuunpuudulikele hiirtele süstitakse inimese perifeerse vere lümfotsüüte (PBL-id), mis tekitavad poolfunktsionaalse ja inimese immuunsüsteemi – sobiva inimese FcR-ide järjestusega – hiirtele süstitakse seejärel antikehasid või Fc-polüpeptiide, mis sisestatud inimese tuumorirakke blokeerivad. Sellises mudelis tekib hiires soovitud antigeeni (näiteks her2/neu SkOV3 munasarja kasvaja rakkudel) blokeerivate Fc-polüpeptiidide ja inimese PBL-ide vaheline interaktsioon tuumoritsiitsete efektorfunktsioonide tekitamiseks. Sellised analüüsid võivad anda kasulikke andmeid nimetatud antikeha potentsiaali kohta ravimina kasutamisel. Analüüsimiseks võib kasutada iga organismi, samas eelistatult on organismideks

imetajad. Sobivateks terapeutilisteks mudeliteks võivad olla ahvid (geneetilise sarnasuse tõttu inimestega) ja seega võib neid kasutada käesoleva leiutise antikehade efektiivsuse, toksilisuse, farmakokineetika või muude omaduste analüüsimiseks. Ravimitena heaks kiitmiseks on vajalikud ka käesoleva leiutise antikehade analüüsid inimestel ja sellised eksperimendid on käesolevasse leiutisse kaasatud. Seega võib käesoleva leiutise antikehasid analüüsida inimestel, määrates seeläbi nende terapeutilise efektiivsuse, toksilisuse, farmakokineetika ja/või muud kliinilised omadused.

Käesoleva leiutise antikehad võivad tekitada loommudelites või inimestes parema toime kui Fc sisaldavad ravimid. Käesolevas leiutises kirjeldatud antikehade retseptori sidumisprofiilid võib valida tsütotoksiliste ravimite potentsiaali suurendamiseks või konkreetsete efektorfunktsioonide või efektorrakkude blokeerimiseks ravimi toime selektiivsuse parandamise eesmärgil. Lisaks võib valida retseptori sidumisprofiilid, mis võivad vähendada mõningaid või kõiki efektorfunktsioone vähendades seeläbi sellise Fc-d sisaldava ravimi kõrvaltoimeid või toksilisust. Näiteks võib suurema osa raku vahendatud efektorfunktsiooni kõrvaldamiseks valida antikeha, mis vähendab seondumist FcγRIIIa, FcγRI ja FcγRIIa-ga või komplemendi vahendatud efektorfunktsioonide piiramiseks võib valida antikeha, millel on vähenenud seondumine C1q-ga. Teatud kontekstis omavad sellised efektorfunktsioonid potentsiaalselt toksilisi toimeid ning nende kõrvaldamine võib suurendada Fc sisaldusega ravimi ohutust ja sellist paranenud ohutusprofiili saab iseloomustada loommudelites. Teatud kontekstis vahendavad sellised efektorfunktsioonid soovitud terapeutilist aktiivsust ja seega võib nende võimendamise suurendada Fc sisaldusega ravimi aktiivsust või potentsiaali ja sellist paranenud aktiivsust või potentsiaali võib iseloomustada potentsiaalselt loommudelites.

Optimeeritud antikehasid saab analüüsida erinevates ortotoopilistes tuumori mudelites. Need kliiniliselt olulised loommudelid on olulised agressiivsete kasvaja nagu pankrease kasvaja, eesnäärmevähi ja rinnavähi patofüsioloogia uurimiseks ja ravimiseks. Sageli kasutatakse inimese tuumori rakkude või doonorpatientide fragmentide organisisesse (näiteks pankrease, eesnäärme või rinnanäärme) injektsiooni piirkonnast leviva lokaalse ja süsteemse tuumori

hindamiseks häiritud immuunsüsteemiga hiiri, k.a atüümseid karvadeta või SCID hiiri.

Käesoleva leiutise antikehade efektiivsust võib hinnata erinevate inimhaiguste vastavates loomudelites. Paljudel juhtudel on vastavateks mudeliteks
5 konkreetsete tuumori antigeenide jaoks sobivad erinevad transgeensed loomad.

Antikehade ja Fc-fusioonide efektiivsuse hindamiseks ja analüüsimiseks saab kasutada vastavaid transgeenseid mudeleid nagu mudeleid, mis avaldavad inimese Fc retseptoreid (näiteks gamma ahelat sisaldav CD16, FcγR1, RIIa/b jne). Antikehade hindamine läbi inimgeenide sisestamise, mis hiirtel või muudel
10 närilistel otse või kaudselt efektorfunktsiooni vahendavad, võib võimaldada efektiivsuse füsioloogiliste uuringute läbiviimist tuumori toksilisuse või muude haiguste nagu autoimmuunsete haiguste ja reumatoidartriidi mudelites. Inimese Fc retseptorid nagu FcγRIIIa võivad omada polümorfisme (näiteks positsioonil 158 V fõi F), mis võimaldavad täiendavat spetsiifiliste inimese polümorfismide ja nende
15 kombinatsioonide sisestamist närilistesse. Erinevad polümorfismipõhiseid FcR-e hõlmavad uuringud ei ole piiratud selles peatükis kirjeldatuga ning hõlmavad kõiki FcR-ide kirjeldusi ja rakendusi, mida käesoleva leiutises mainitud on. Käesoleva leiutise antikehadel võib olla sellistes transgeensetes mudelites Fc-d sisaldavatest ravimites parem aktiivsus ja seda eriti variandid, mille sidumisprofiile on
20 optimeeritud inimese FcγRIIIa vahendatud aktiivsuse suhtes, võivad demonstreerida paremat aktiivsust transgeensetes CD16 hiirtes. Antikehade, mille sidumisprofiile vastavate retseptorite jaoks on optimeeritud, korral võib täheldada sarnaseid efektiivsuse täiustusi hiirtel, kes on transgeensed muude inimese Fc retseptorite nagu FcγRIIa, FcγRI jne suhtes. Mitme inimese retseptori suhtes
25 transgeensed hiired demonstreeriksid paremat aktiivsust antikehade suhtes, mille sidumisprofiile on optimeeritud vastavate mitme retseptori suhtes nii, nagu on välja toodud joonisel Fig 5.

Kuna loomudelite kasutamisel võimalike terapeutiliselt kasulike antikehade potentsiaalse efektiivsuse iseloomustamisel esineb raskusi ja kaheti mõistetavusi,
30 võivad mõned käesoleva leiutise variantpolüpeptiidid leida kasutamist puhvritena potentsiaalse efektiivsuse hindamisel inimesel. Sellised puhvermolekulid jäljendavad loomsüsteemis eelistatult vastava potentsiaalse inimantikeha FcR

ja/või komplemendi bioloogiat. Seda jäljendamist iseloomustavad kõige tõesemalt vastavad assotsiatsiooni afiinsused vastavate antikehade ja looma vs. inimese retseptorite vahel. Näiteks juhul, kui antikeha, millel on paranenud afiinsus inimese FcγRIIIa suhtes, potentsiaalse efektiivsuse hindamiseks inimesel kasutatakse hiire mudelit, oleks sobival puhvervariandil paranenud afiinsus hiire FcγRIII-2 suhtes (hiire CD16-2). Juhul, kui antikeha, millel on vähenenud afiinsus inhibeeriva inimese FcγRIIb suhtes, potentsiaalse efektiivsuse hindamiseks inimesel kasutatakse hiire mudelit, oleks sobival puhvervariandil vähenenud afiinsus hiire FcγRII suhtes. Tuleks mainida, et puhverantikehad saab valmistada inimese antikeha, looma antikeha või mõlema kontekstis.

Antikehade analüüs võib hõlmata efektiivsuse uuringuid primaatidel (näiteks makaagi *Macaca fascicularis* mudelis), mis hõlbustab märklaudantigeeni sisaldavate iseloomulike märklaudrakkude lõppemise hindamist. Täiendavate primaadi mudelite näideteks on reesusahvi ja Fc polüpeptiidi mudeli kasutamine autoimmuunsete haiguste, organi siirdamist ja kasvaja terapeutilistes uuringutes.

Antikeha või Fc-fusiooniga seonduvate toimete, mida ei saa hinnata standardse farmakoloogia profiiliga või mis esinevad ainult pärast aine korduvat manustamist, saab sooritada toksilisuse uuringud. Enamus toksilisuse analüüse sooritatakse kahel loomaliigil – närilisel ja mõnel muul loomal – kindlustamiseks, et enne uute terapeutiliste ainete inimkasutusse võtmist ei oleks ükski ootamatu kõrvaltoime kahe silma vahele jäänud. Üldiselt võib neid mudeleid kasutada erinevate toksilisuste mõõtmiseks, k.a genotoksilisus, krooniline toksilisus, immunogeensus, reproduktiivne/arengu toksilisus ja kartsinogeensus. Eelnevalt mainitud parameetrid hõlmavad ka standardseid toidu tarbimise, kehakaalu, antikehade tekke ning kliinilise keemia mõõtmisi ja standardorganite/kudede makro- ja mikroskoopilist uuringut (näiteks kardiotoksilisuse määramiseks) Täiendavateks mõõtmisparameetriteks on injektsioonipiirkonna trauma ja võimalik neutraliseerivate antikehade mõõtmine. Traditsiooniliselt hinnatakse iseseisvate või konjugeeritud monoklonaalsete antikehade põhiste ravimite ristreaktiivsust tervete kudede, immunogeensus/antikehade tootmist, konjugaadi või linkeritoksilisust ja radiomärgistatud erimite „kõrvalseisja“ toksilisust. Samas võivad sellised uuringud olla individualiseeritud konkreetsete mõjude uurimiseks ning

nende läbiviimisel tuleks järgida ICH S6 määratud juhiseid (eelpool mainitud biotehnoloogiliste toodete ohutusuringud). Kehtivad üldised põhimõtted, et tooted peavad olema piisavalt hästi iseloomustatud, nimetatud toodete lisandid/saasteained peavad olema eemaldatud ning analüüsitava materjali tuleb 5 võrrelda kogu väljatöötamisprotsessi vältel ning see peab vastama GLP-le.

Käesoleva leiutise antikehade farmakokineetikat saab analüüsida erinevates loomsüsteemides, millest kõige olulisemateks on primaadid nagu makaak *Macaca fascicularis* ja reesusahvid. Poolestusaja (päevad kuni nädalad) hindamiseks võib kasutada ühekordseid või korduvaid intravenoosseid/subkutaanseid manustamisi 10 6000-kordses doosivahemikus (0,05 kuni 300 mg/kg). Mõõta võib ka nii kontsentratsiooni plasmas kui ka eemaldamiskiiruse plasmas, nagu ka jaotumismahtu stabiilses faasis ja süsteemse absorbeeruvuse taset. Selliste mõõtmisparameetrite näideteks on üldiselt maksimaalne vaadeldud plasma kontsentratsioon (C_{maks}), C_{maks} -i saavutamiseks kuluv aeg (T_{maks}), 15 plasmakontsentratsiooni-aja kõvera kõveraalune ala ajahetkest 0 kuni lõpmatuseni [$AUC(0-lõpmatus)$] ja nähtav kõrvaldamise poolestusaeg ($T_{1/2}$). Täiendavateks mõõdetavateks parameetriteks võivad olla pärast intravenooset manustamist saadud kontsentratsiooni-aja andmete osaline analüüs ja biosaadavus. *Macaca fascicularis*'e farmakoloogiliste/toksikoloogiliste analüüside näideteks on ravimite 20 Rituxan ja Zevalin jaoks loodud analüüsid, kus CD20 monoklonaalsed antikehad on ristreaktiivsed. Näriliste mudelites võib mõõta ka bioloogilist jaotuvust, dosimeetrilisi näitajaid (radiomärgistatud antikehadele) ja farmakokineetikat. Sellistes uuringutes hinnatakse tolerantsi kõikide manustatud dooside korral, toksilisust lokaalsete kudede suhtes, närilise ksenotransplantaadi loomudelitel 25 eelistatud lokaliseerimise ja märklaudrakkude (näiteks CD20 positiivsete rakkude) lõppemist.

Käesoleva leiutise antikehad võivad tekitada loomudelites või inimestes Fc-sisaldavate ravimitega võrreldes parema farmakokineetika. Näiteks parem seondumine FcRn-iga võib suurendada Fc sisaldusega ravimi poolestusaega ja 30 aktiivsust. Alternatiivina võib vähenenud seondumine FcRn-iga vähendada Fc sisaldusega ravimi poolestusaega ja aktiivsust juhtudel, kus vähenenud efektiivsus on eelistatud, näiteks ravimi kõrvaltoimete esinemisel.

Praktikas on teada, et Fc retseptorite järjestust avaldatakse erinevates immuunsüsteemi rakutüüpides, nagu ka erinevates kudedes erinevalt. Fc retseptorite erinev kudedes jaotumine võib avaldada mõju käesoleva leiutise antikehade farmakodünaamilistele (FD) ja farmakokineetilistele (FK) omadustele.

- 5 Kuna käesoleva leiutise antikehadel on erinevate Fc retseptorite järjestuste suhtes erinevad afiinsused, võib polüpeptiidide FD ja/või FK omaduste täiendav analüüs osutada ülimalt kasulikuks iga kandidaadist polüpeptiidi FD, FK ja terapeutilise efektiivsuse optimaalse tasakaalu määramiseks.

- 10 Farmakodünaamiliste analüüside näideteks võivad olla iseloomulike tuumorirakkude blokeerimine või signalisatsioonimehhanismide blokeerimine, märklaud-antigeeni avaldavate rakkude või signaalide häbumise mõõtmine jne. Käesoleva leiutise antikehad võivad olla suunatud konkreetsetele efektorraku populatsioonidele ja suunata seeläbi Fc-sisaldusega ravimeid teatud aktiivsuseid mobiliseerima, parandades seeläbi potentsiaali või suurendades tungimist mõnda
- 15 eriti soodsasse füsioloogilisse kompartmenti. Näiteks antikeha, mis on suunatud eelistatult FcγRIIIb, võib kasutada neutrofiili aktiivsuse ja lokalisatsiooni mõjutamiseks. Selliseid farmakodünaamilisi toimeid võib demonstreerida loomudelites või inimestel.

Kliinilised kasutusotstarbed

- 20 Käesoleva leiutise antikehasid võib kasutada erinevatel nõudluspunktides defineeritud terapeutilistel eesmärkidel. Eriala spetsialist mõistab, et käesoleva leiutise antikehasid võib kasutada igal antikehasid rakendaval terapeutilisel eesmärgil. Ühes eelistatud teostuses võib antikehad manustada patsiendile
- 25 nakkushaiguste ravimiseks.

- Käesolevas leiutises on "patsiendiks" nii inimesed kui ka muud loomad, eelistatult imetajad ja kõige eelistatumalt inimesed. Sega saab käesoleva leiutise antikehasid kasutada nii inimeste ravimiseks kui ka veterinaarias. Mõiste „ravi“ või „ravimine“ tähistab käesoleva leiutise kontekstis haiguse või häire nii terapeutilist ravi kui ka
- 30 profülaktilist ravi ja mahasuruvaid meetmeid. Näiteks antikeha edukas manustamine enne haiguse avaldumist võib põhjustada haiguse ravimise. Veel

- ühaks näiteks on optimeeritud antikeha edukas manustamine pärast haiguse kliiniliste sümptomite avaldumist haiguse sümptomitega võitlemiseks. „Ravimine“ ja „ravi“ hõlmavad samuti optimeeritud antikeha manustamist haiguse kõrvaldamiseks pärast haiguse ilmnemist. Aine edukas manustamine pärast
- 5 avaldumist ja kliiniliste sümptomite väljakujunemist koos võimaliku kliiniliste sümptomite vähenemise ja võibolla ka haiguse leevendamisega hõlmab haiguse ravi. Seega on „ravi vajavateks“ imetajateks nii imetajad, kellel on juba haigus või häire välja kujunenud, kui ka imetajad, kellel on oht haiguse või häire välja kujunemiseks, k.a imetajad, kellel haigust või häiret ennetada soovitakse.
- 10 Käesoleva leiutise antikeha võib manustada patsiendile, kellel esinev haigus puudutab valgu või mõne muu molekuli ebasobivat ekspressiooni. See on mõeldud hõlmama haiguseid ja häireid, mida iseloomustavad kõrvalekalletega valgud, näiteks sisalduva valgu koguse, valgu lokalisatsiooni, translatsioonijärgse modifikatsiooni, konformatsioonilise oleku, mutandi või patogeeni valgu tõttu jne.
- 15 Haigust või häiret võivad iseloomustada ka muutunud molekulid, k.a polüsahhariidid ja gangliosiidid. Üleküllus võib olla tingitud mistahes põhjusest, näiteks molekulaarsel tasemel toimuvast üleavaldamisest, pikenenud või akumulbeerunud esinemisest toimepiirkonnas või valgu suurenenud aktiivsusest normaaltasemega võrreldes. See definitsioon hõlmab ka haiguseid ja häireid, mida
- 20 iseloomustab valgu reduktsioon. See reduktsioon võib olla tingitud mistahes põhjusest, näiteks molekulaarsel tasemel toimuvast vähenenud ekspressioonist, lühenenud või vähenenud esinemisest toimepiirkonnas või valgu vähenenud aktiivsusest normaaltasemega võrreldes. Sellist valgu üleküllust või reduktsiooni saab mõõta tavapärase ekspressiooni, esinemise või valgu aktiivsuse suhtes ja
- 25 nimetatud mõõtmine võib omada olulist rolli käesoleva leiutise antikehade väljatöötamisel ja/või kliinilisel analüüsimisel.

„Kasvaja“ ja „kantserogeensuse“ all mõeldakse käesolevas leiutises imetajate füsioloogilist tingimust, mida iseloomustab tavaliselt reguleerimata rakukasv. Kasvajate näideteks on kartsinoom, lümfoom, blastoom, sarkoom (k.a

30 liposarkoom), neuroendokriini tuumorid, mesoteliom, švannoom, meningioom, adenokartsinoom, melanoom ja leukeemia või lümfoidi tuumorid.

Selliste kasvajate konkreetsemateks näideteks on hematoloogilised tuumorid nagu mitte-Hodgkini lümfoomid (MHL). MHL kasvajate näideteks on Burkitti lümfoom (BL), väike lümfotsüütiline lümfoom/krooniline lümfotsüütiline leukeemia (SLL/KLL), mantelraku lümfoom (MRL), follikulaarne lümfoom (FL), difuusne suurte B-rakkude lümfoom (DLCL), marginaalse tsooni lümfoom (MZL), karvrakuline leukeemia (HCL) ja lümfoplasmasüütiline leukeemia (LPL), ekstranodaalne marginaalse tsooni B-rakkude lümfoom limaskestaga seonduvates lümfoidikudedes (MALT), nodaalne marginaalse tsooni B-rakkude lümfoom, mediastinaalne suure raku lümfoom, intravaskulaarne suure raku lümfoom, primaarne efusiooni lümfoom, pre-B-raku lümfoblastiline leukeemia/lümfoom, pre-T- ja NK-rakkude lümfoom (pre-T-raku lümfoblastiline lümfoom, blastiline NK-rakkude lümfoom), küpsete T- ja NK-rakkude tuumorid, k.a perifeerne T-raku lümfoom ja leukeemia (PTL), täiskasvanu T-raku leukeemia ja/või T-raku lümfoomid ja suurte granulaarsete lümfotsüütide leukeemia, T-raku krooniline lümfotsüütiline leukeemia/prolümfotsüütiline leukeemia, T-raku suurte granulaarsete lümfotsüütide leukeemia, agressiivne NK-rakkude leukeemia, ekstranodaalne T-/NK-raku lümfoom, enteropaatia tüüpi T-raku lümfoom, hepatospleeniline T-raku lümfoom, anaplastiline suure raku lümfoom (ALCL), angiotsetriiline ja angioimmunoblastiline T-raku lümfoom, *mycosis fungoides*/Sézary sündroom ja kutaanne T-raku lümfoom (CTCL). Muude kasvajate, mida käesoleva leiutise antikehadega ravida saab, näideteks on Hodgkini lümfoom; lümfotsüüdi eellasrakkude tuumorid, k.a B-raku akuutne lümfoblastiline leukeemia/lümfoom (B-ALL) ja T-raku akuutne lümfoblastiline leukeemia/lümfoom (T-ALL); tümoom; Langerhani rakkude histotsütoos; hulgimüeloom; müeloidi neoplaasiad nagu akuutsed müelogeensed leukeemiad (AML), k.a AML koos küpsemisega, AML ilma diferentseerumiseta, akuutne promüelotsüütiline leukeemia, akuutne müelomonotsüütiline leukeemia ja akuutsed monotsüütilised leukeemiad; müelodüsplastilised sündroomid ja kroonilised müeloproliferatiivsed häired (MDS), k.a krooniline müelogeenne leukeemia (CML). Muude kasvajate, mida käesoleva leiutise antikehadega ravida saab, näideteks on kesknärvisüsteemi tuumorid nagu glioom, glioblastoom, neuroblastoom, astrotsütoom, medulloblastoom, ependümoom ja retinoblastoom; tahked tuumorid, mis esinevad peas ja kaelas (näiteks ninaneelu kasvaja,

süljenäärme kartsinoom ja söögitoru vähk), kopsus (näiteks väikerakk-kopsuvähk, mitteväikerakk-kopsuvähk, kopsu adenokartsinoom ja kopsu lamerakk-kartsinoom), seedetraktis (näiteks soolestiku või mao kasvajakasvaja, k.a seedetrakti kasvaja, sapipõie või sapijuha kasvaja käärsoole kasvaja, pärasoole kasvaja, kolorektaalne kasvaja ja päraku kartsinoom), suguelundites (näiteks munandi, peenise või eesnäärme vähk, emaka, vagiina, häbeme, emakakaela, munasarja või endometriumi vähk), nahal (näiteks melanoom, basaalraku kartsinoom, lamerakk-kasvaja, aktiinne keratoos), maksas (näiteks maksavähk, maksa kartsinoom, hepatotsellulaarne kasvaja ja hepatoom), luudes (näiteks osteoblastoom ja osteolüütilised luuvähid) täiendavates kudedes ja organites (näiteks pankease vähk, põievähk, neeruvähk, harknäärme kasvaja, rinnavähk, kõhukelme kasvaja ja Kaposi sarkoom) ja veresoonekonna tuumorid (näiteks angiosarkoom ja hemagioperitsütoom).

Eelistatud onkoloogilisteks näidustusteks, mida käesoleva leiutise anti-CD19 antikehadega ravida saab, on kõik mitte-Hodgkini lümfoomid (MHL) ja eriti ravile allumatu/resistentne MHL, krooniline lümfotsüütiline leukeemia (KLL), B-raku akuutne lümfoblastiline leukeemia/lümfoom (B-ALL) ja mantelraku lümfoom (MRL), olemata samas nendega piiratud.

Autoimmuunsuse põhjuseks on organismile omase tolerantsuse kadumine, mis hõlmab selles osalevaid humoraalseid ja/või raku vahendatud immuunmehhanisme. Tsentraalse ja/või perifeerse tolerantsuse kadumise tagajärjedeks on muuhulgas ka isereageerivate B-rakkude ja T-rakkude ellujäämine ja aktiveerumine. Mitmeid autoimmuunseid haiguseid iseloomustab B- ja/või T-lümfotsüütide liigne aktiveerimine. Nende rakkude aktiveerimine nõuab nii antigeneeni osalemist kui ka osalevate lümfotsüütide kaasstimuleerivaid signaale. Autoimmuunseid haiguseid ravitakse B-rakkude antikeha vahendatud kõrvaldamise, inhibeerimise, antiproliferatsiooni ja/või blokeerimisega.

Käesolevas leiutises on autoimmuunsete haiguste näideteks allogeense saarekese transplantaadi hülgamine, areaatalopeetsia, anküloseeriv spondüliit, antifosfolipiidi sündroom, autoimmuunne Addisoni tõbi, antineutrofiilne tsütoplastilised autoantikehad (ANCA), adrenaliinäärme autoimmuunsed haigused, autoimmuunne hemolüütiline aneemia, autoimmuunne hepatiit,

autoimmuunne müokardiit, autoimmuunne neutropeenia, autoimmuunne ooforiit ja ortsiit, autoimmuunne trombotsütopeenia, autoimmuunne urtikaaria, Behceti tõbi, bulloosne pemfigoid, kardiomüopaatia, Castlemani sündroom, tseliaalne dermatiit, kroonilise väsimuse ja vähenenud immuunsuse sündroom, krooniline põletikuline demüelineeriv polüneuropaatia, Churg-Straussi sündroom, tsikatrikaalne pemfigoid, CREST-i sündroom, külma aglutiniini haigus, Crohni tõbi, dermatomüosiit, diskoidluupus, põhimõtteliselt segunenud krüoglobulineemia, faktori VIII defitsiit, fibromüalgia-fibromüosiit, glomerulonefriit, Grave tõbi, Guillain-Barre, Goodpasture sündroom, transplantaat-peremehe vastu haigus (GVHD), Hashimoto türoidiit, hemofiilia A, idiopaatiline kopsufibroos, idiopaatiline trombotsütopeeniline purpur (ITP), IgA neuropaatia, IgM polüneuropaatiad, immuunsüsteemi vahendatud trombotsütopeenia, juveniilne artriit, Kawasaki tõbi, lamelihhen, erütematoosluupus, Meinere tõbi, segunenud sidekoe haigus, sclerosis multiplex (SM), I tüübi diabeet, raskekujuline müasteenia, harilik villtõbi, aneemia, nodoosne polüartriit, polüglandulaarsed sündroomid, *polymyalgia rheumatica*, polümüosiit ja dermatomüosiit, primaarne agammaglobulineemia, primaarne biliaarne tsirroos, psoriaas, psoriaatiline artriit, Reynauldi fenomen, Reiteri sündroom, reumatoidartriit (RA), sarkoidoos, skleroderm, Sjorgeni sündroom, tahke organi siirdamise nurjumine, kange mehe sündroom, süsteemne erütematoosluupus (SLE), Takayasu artriit, temporaalne artriit/hiidraku artriit, trombootiline trombotsütopeeniline purpur, haavandiline koliit, uveiit, vaskuliidid nagu herpetivormse dermatiidi vaskuliit, laikpigmentatsioon ja Wegneri granulomatoos.

Autoimmuunsete haiguste, mida käesoleva leiutise anti-CD19 antikehadega ravida saab, eelistatud näideteks on reumatoidartriit (RA), süsteemne erütematoosluupus (SLE või luupus), sclerosis multiplex, Sjorgeni sündroom ja idiopaatiline trombotsütopeeniline purpur (ITP).

Põletikuliste haiguste all peetakse silmas akuutset respiratoorse distressi sündroomi (ARDS), akuutset septilist artriiti, adjuvandi artriiti, juveniilset idiopaatilist artriiti, allergilist entsefalomüeliiti, allergilist nohu, allergilist vaskuliiti, allergiaid, astmat, ateroskleroosi, kroonilistest bakteriaalsetest või viiruslikest infektsioonidest tingitud kroonilist põletikku, kroonilist obstruktiivset kopsuhaigust

(COPD), koronaararteri haiguseid, entsefaliiti, põletikulist soolehaigust, põletikulist osteolüüsi, akuutsete ja viivitud ülitundlikkuse reaktsioonidega seonduvad põletikku, tuumoritega kaasnevat põletikku, perifeerseid närvivigastusi või demüelineerivaid haiguseid, koevigastuste nagu muljumiste ja isheemiaga seonduvaid põletikke, meningiidist tingitud põletikku, mitme organi vigastuse sündroomi, kopsufibroosi, sepsist ja septilist šokki, Stevens-Johnsoni sündroomi, diferentseerumata artroopiat ja diferentseerumata spondüloartropaatiat.

„Nakkushaiguste“ all peetakse silmas haiguseid, mida põhjustavad patogeenid nagu viirused, bakterid, seened, ainuraksed ja parasiidid. Nakkushaigusi põhjustavad viirused nagu adenoviirus, tsütomegaloviirus, dengue-palaviku viirus, Epstein-Barri viirus, hanta viirus, A-hepatiidi viirus, B-hepatiidi viirus, C-hepatiidi viirus *herpes simplex* I tüübi viirus, *herpes simplex* II tüübi viirus, inimese immuunpuudulikkuse viirus (HIV), inimese papilloomviirus (HPV), influenza viirus, leetrite viirus, mumpsiviirus, papovaviirus, poliomüeliidi viirus, hingamisteede süntsüütiumi viirus, veistekatku viirus, rinoviirus, rotaviirus, rubella viirus, SARS, rõugeviirus, viiruslik meningiit jne. Nakkushaiguseid võivad põhjustada ka bakterid nagu *Bacillus anthracis*, *Borrelia burgdorferi*, *Campylobacter jejuni*, *Chlamydia trachomatis*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium tetani*, *Diphtheria*, *E. coli*, *Legionella*, *Helicobacter pylori*, *Mycobacterium rickettsia*, *Mycoplasma neisseria*, *Pertussis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. pneumonia*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Vibria cholerae*, *Yersinia pestis* jne. Nakkushaiguseid võivad põhjustada ka seenorganismid nagu *Aspergillus fumigatus*, *Blastomyces dermatitidis*, *Candida albicans*, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Penicillium marneffeii* jne. Nakkushaiguseid võivad põhjustada ka ainuraksed ja parasiidid nagu klamüüdia, koksidioa, leišmaania, malaaria, riketsia, trüpanosoom jne.

Käesoleva leiutise antikehasid võib kasutada ka täiendavate haiguste ravimiseks või ennetamiseks, mille näideteks on südamehaigused nagu kongestiivne südamepuudulikkus (CHF), müokardiit ja muud südamelihase haigused; nahahaigused nagu roosvistrik, akne ja ekseem; luude ja hammaste haigused nagu luude hõrenemine, osteoporoos, Pageti tõbi, Langerhansi rakkude histiotsütoos, periodontiit, osteopeenia, osteomalaatsia, monostootiline fibroosne

düsplaasia, polüostootiline fibroosne düsplaasia, luude metastaas, luuvalu, humoraalne pahaloomuline hüperkaltseemia, hambajuureümbrise taastamine, selgroovigastus ja luumurrud; metaboolsed haigused nagu Gaucheri tõbi; endokriini haigused nagu Cushingi sündroom; ja neuroloogilised haigused.

- 5 Mitmed retseptorid, mis võivad käesoleva leiutise antikehadega interaktsioonis olla, on inimpopulatsioonis polümorfseid. Uuritava patsiendi või patsientide rühma korral võib käesoleva leiutise antikehade efektiivsust mõjutada iseloomulike polümorfismide esinemine või puudumine valkudes. Näiteks FcγRIIIA on polümorfne positsioonil 158, mis on tavaliselt V (suure afiinsusega) või F (madala
- 10 afiinsusega). On täheldatud, et V/V homotsügotse genotüübiga patsiendid reageerivad anti-CD20 antikehaga Rituxan® (rituksimaab) ravile paremini ja see on tingitud ilmselt nende patsientide tugevamast NK reageeringust (Dall'Ozzo *et al.* (2004) *Cancer Res.* 64:4664-9). Täiendavate polümorfismide näideteks on FcγRIIA R131 või H131 ja on teada, et sellised polümorfismid suurendavad või
- 15 vähendavad Fd sidumist ja järgnevat bioloogilist aktiivsust sõltuvalt käesoleva leiutise polümorfismi antikehade eelistatud seondumisest retseptori konkreetse polümorfse vormiga (näiteks FcγRIIIA 158 V) või seondumisest retseptori konkreetsetel positsioonil samaväärse afiinsusega kõikide polümorfismide suhtes, näiteks nii FcγRIIIA 158 V kui ka 158F polümorfismidega. Ühes eelistatud
- 20 teostuses võib kasutada käesoleva leiutise antikehasid, millel on samaväärsed sidumisnäitajad polümorfismidega ja see võimaldab kõrvaldada erinevate polümorfismidega patsientidel täheldatud erineva efektiivsuse. Selline omadus võib anda ühtlasema terapeutilise reageeringu ning vähendada ravile allumatute patsientide hulka. Sellistel Fc variantidel, mis seonduvad retseptori erinevate
- 25 polümorfismidega identselt, võib olla suurenenud bioloogiline aktiivsus nagu ADCC, CDC või poolestusaeg vereringes, või alternatiivina vähenenud aktiivsus, mis on tingitud vastavate Fc retseptoritega seondumise moduleerimisest. Käesoleva leiutise antikehad võivad seonduda ühega retseptori polümorfismidest suurema või väiksema afiinsusega, rõhutades või vähendades seeläbi
- 30 olemasolevat seondumise erinevust. Selline omadus võib võimaldada ravimite valmistamist, mis on eriti efektiivsed sellist polümorfismi omavate patsientide ravimiseks. Näiteks patsiendid, kellel esineb polümorfism, mille afiinsus on kõrgem inhibeeriva retseptori nagu FcγRIIB suhtes, võiksid saada ravimit, mis sisaldab

antikeha, mis omakorda vähendab seondumist retseptori sellise polümorfse vormiga, luues seeläbi efektiivsema ravimi.

Käesoleva leiutise antikehade efektiivsuse ennustamiseks võib analüüsida selliste polümorfismide olemasolu patsientidel. Neid andmeid võib kasutada näiteks patsientide valimiseks või välistamiseks kliinilistest katsetest või heakskiidu järgseks sobivate doosi suuruste ja ravivõimaluste juhiste andmiseks arstidele ja patsientidele. Näiteks patsientides, kes on homotsügootsed või heterotsügootsed FcγRIIIA 158F suhtes, omavad antikeha ravimid nagu anti-CD20 mAb (rituksimaab) minimaalset mõju (Carton, 2002, Blood 99: 754-758; Weng 2003 J. Clin. Oncol. 21: 3940-3947); sellistel patsientidel võib esineda parem kliiniline reageering käesoleva leiutise antikehade kasutamisel. Patsiendid võib valida käesoleva leiutise antikeha kliinilistes katsetes osalemiseks juhul, kui nende genotüüp näitab, et nad reageerivad tõenäoliselt käesoleva leiutise antikehale paremini kui ühele või rohkemale hetkel kasutatavale antikehapõhisele ravimile. Sobivad doosi suurused ja ravirežiimid määratakse selliste genotüübi andmete alusel. Patsiendid sobivad kliinilistes katsetes osalemiseks või ravimiseks pärast nende polümorfismi genotüübil põhinevat heakskiitu ja selline teraapia hõlmab antikeha, mille efektiivsust sellistele patsientidele on suurendatud või alternatiivina hõlmab selline teraapia antikeha, mille aktiivsus erinevate polümorfismi vormide suhtes ei erine.

Käesolevas leiutises avaldatakse diagnostilised analüüsid patsientide määramiseks, kellel esineb tõenäoliselt soodne kliiniline reageering käesoleva leiutise antikeha suhtes või kellel avaldub tõenäoliselt märkimisväärselt parem reaktsioon käesoleva leiutise antikehaga ravimisel võrreldes ühe või rohkema hetkel kasutatava antikeha ravimiga. Kasutada võib iga teadaolevat inimestel kasutatavat FcγR polümorfismide määramise meetodit.

Lisaks võib kliinilisi proove nagu vere- ja koeproove analüüsida prognoosivate analüüsidega. Selliseid analüüse võidakse kasutada efektorfunktsiooni aktiivsuse nagu ADCC, CDC, fagotsütoosi ja opsonisatsiooni analüüsimiseks või kasvajate või muidu patogeensete rakkude tapmiseks (hoolimata toimemehhanismist).

ADCC analüüse (näiteks eelpool kirjeldatud) võib kasutada konkreetse patsiendi korral käesoleva leiutise antikeha efektiivsuse prognoosimiseks. Neid andmeid võib kasutada patsientide määramiseks kliinilistes katsetes osalemiseks või neist välistamiseks või otsuste langetamiseks sobivate doosi suuruste ja ravirežiimide 5 kohta. Neid andmeid võib kasutada ka ravimi valimiseks, milles sisalduv antikeha omab sellises analüüsis parimat aktiivsust.

Ravimkoostised

Käesolevasse leiutisse on kaasatud ka ravimkoostised, mis koosnevad nõudluspunktides defineeritud käesoleva leiutise antikehast ja farmatseutiliselt 10 sobivast tugiainest. Käesoleva leiutise antikeha sisaldavad koostised võib valmistada, segades soovitud puhtusastmega antikeha lüofiliseeritud koostiste või vesilahuste vormis ravimkoostise saamiseks valikuliste farmatseutiliselt sobivate tugiainete, ekstsipientide või stabilisaatoritega (Remington's Pharmaceutical Sciences 16. trükk, Osol, A. (toimetaja) (1980)). Sobivad tugiained, ekstsipiendid 15 või stabilisaatorid on patsientidele kasutatavate dooside ja kontsentratsioonide juures mittetoksilised ning hõlmavad ühendeid, mis on valitud rühmast, kuhu kuuluvad puhvrid nagu fosfaat, tsitraat ja muud orgaaniliste hapete soolad; antioksidandid nagu askorbiinhape ja metioniin; säilitusained (näiteks oktaadetsüüldimetüülbensüül-ammooniumkloriid; heksamatooniumkloriid; 20 bensalkooniumkloriid, benetooniumkloriid; fenool-, butüül- või bensüülalkohol); alküülparabeenid nagu metüül- või propüülparabeen; katehhool; resortsinool; tsükloheksanool; 3-pentanool; ja m-kresool); madala molekulmassiga (vähem kui umbes 10 jääki) polüpeptiidid; valgud nagu seerumalbumiin, želatiin või immunoglobuliinid; hüdrofiilsed polümeerid nagu polüvinüülpürrolidoon; 25 aminohapped nagu glütsiin, glutamiin, asparagiin, histidiin, arginiin või lüsiin; monosahhariidid, disahhariidid ja muud süsivesikud, k.a glükoos, mannoos või dekstriinid; kelaativad ained nagu EDTA; suhkrud nagu sahharoos, mannitool, trehaloos või sorbitool; magustajad ja muud maitset andvad ained nagu mikrokristalne tselluloos, laktoos, maisi ja muud tärklised; siduvad ained; lisandid; 30 värvained; soolasid moodustavad vastasioonid nagu naatrium; metallkompleksid (näiteks Zn-valgu kompleksid); ja/või mitteioonsed pindaktiivsed ained nagu TWEEN™, PLURONICS™ või polüetüleenglükool (PEG). Ühes eelistatud

teostuses võib käesoleva leiutise antikeha sisaldav ravimkoostis olla vees lahustuvas vormis, näiteks farmatseutiliselt sobivate sooladena, mis hõlmavad nii happe kui ka aluse liitsoolasid. „Farmatseutiliselt sobiv happe liitsool“ tähistab soolasid, mis säilitavad vabade aluste bioloogilise efektiivsuse ja ei ole

5 bioloogiliselt või muidu soovimatud ning on moodustunud anorgaaniliste hapete nagu vesinikkloriidhappe, vesinikbromiidhappe, väävelhappe, lämmastikhappe, fosforhappe jne; ning orgaaniliste hapete nagu äädikhappe, propioonhappe, glükoolhappe, püroviinamariahappe, oksüülhappe, maleiinhappe, maloonhappe, suktsiinhappe, fumaarhappe, viinhappe, sidrunhappe, bensoehappe,

10 kaneelhappe, mandelhappe, metaansulfoonhappe, etaansulfoonhappe, p-tolueensulfoonhappe, salitsüülhappe ja sarnaste hapetega. „Farmatseutiliselt sobivateks aluse liitsooladeks on soolad, mis on deriveeritud anorgaanilistest alustest nagu naatriumist, kaaliumist, liitiumist, ammooniumist, kaltsiumist, magneesiumist, rauast, tsingist, vasest, mangaanist, alumiiniumist jne. Eriti

15 eelistatud on ammoonium-, kaalium-, naatrium-, kaltsium- ja magneesiumsoolad. Farmatseutiliselt sobivatest orgaanilistest mittetoksilistest alustest deriveeritud soolade näideteks on primaarsete, sekundaarsete ja tertsaarsete amiinide; asendatud amiinide, k.a looduslikult esinevate asendatud amiinide; tsükliliste amiinide; ja aluselisteioonvahetusvalkude nagu isopropüülamiini, trimetüülamiini,

20 dietüülamiini, trietüülamiini, tripropüülamiini ja etanoolamiini soolad. *In vivo* manustamiseks kasutatavad ravimkoostised on eelistatult steriilsed. See on kergesti saavutatav filtreerimisega läbi steriilsete filtreerimismembraanide või muude meetoditega.

Käesolevas leiutises avaldatud antikehad võib formuleerida ka immunoloogiliste

25 liposoomidena. Liposoomiks on väike vesikul, mis sisaldab erinevaid lipiidide, fosfolipiidide ja/või pindaktiivse aine tüüpe, mis on kasulikud terapeutilise aine transpordiks imetajasse. Antikeha sisaldavad liposoomid saab valmistada praktikas teadaolevate meetoditena, mida on kirjeldatud näiteks Epstein *et al.*, 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688; Hwang *et al.*, 1980, Proc. Natl. Acad.

30 Sci. USA, 77: 4030; USA patendis nr 4 485 045; USA patendis nr 4 544 545; ja PCT WO 97/38731. Pikenenud vereringes viibimise ajaga liposoomid on avaldatud USA patendis nr 5 013 556. Liposoomi komponendid asuvad tavaliselt kahes kihis, mis sarnaneb bioloogiliste membraanide lipiidi paigutusega. Käesoleva leiutise

eesmärkidel eriti sobivad liposoomid saab valmistada pöördfaasi aurutamismeetodiga, kasutades lipiidikoostist, mis koosneb fosfatidüülkoliinist, kolesteroolist ja PEG-deriveeritud fosfatidüületanolamiinist (PEG-PE). Liposoomid ekstrudeeritakse soovitud läbimõõduga liposoomide saamiseks läbi
5 määratud poori suurusega filtri. Liposoomis asub valikuliselt kemoterapeutiline aine või mõni muu terapeutiline aktiivaine (Gabizon *et al.*, 1989, J. National Cancer Inst. 81: 1484).

Antikeha ja muud terapeutilised aktiivained võib sulgeda samuti mikrokapslitesse, mis on valmistatud näiteks koatservatsioonitehnikate, pinna polümerisatsiooni
10 (kasutades näiteks hüdroksümetüülselluloosi või želatiini mikrokapsleid või polü- (metüülmetatsülaadi) mikrokapsleid), kolloidsete ravimi transpordisüsteemidena (näiteks liposoomide, albumiini mikrosfääride, mikroemulsioonide, nanoosakeste ja nanokapslitenä) ja makroemulsioonidena. Sellised tehnikad on avaldatud näiteks teoses Remington's Pharmaceutical Sciences, 16. trükk, Osol, A. (toimetaja)
15 (1980). Valmistada saab ka pideva vabanemisega preparaadid. Pideva vabanemisega koostiste sobivateks näideteks on tahkete hüdrofoobsete polümeeride poolläbitavad matriksid ja nimetatud matriksid esinevad vormitud kujul, näiteks kilede või mikrokapslitenä. Pideva vabanemisega matrikside
20 näideteks on polüestrid, hüdrogeelid (näiteks polü(2-hüdroksümetüülmetakrülaad) või polü(vinüülalkohol)), polülaktiidid (USA patent nr 3 773 919), L-glutaamhape ja gamma-etüül-L-glutamaadi kopolümeerid, lagunematu etüleenvinüülatsetaat, degradeeruvad piimhape-glükoolhappe kopolümeerid nagu Lupron Depot™ (süstitavad mikrosfäärid, mis koosnevad piimhape-glükoolhappe kopolümeerist ja leuproliidatsetaadist), polü-D(-)-3-hüdroksübutüürhape ja ProLease® (müügil
25 ettevõttelt Alkermes), mille näol on tegemist mikrosfääripõhise transpordisüsteemiga, mis koosneb polü-DL-laktiid-ko-glükoliidi (PLG) matriksisse liidetud soovitud bioaktiivsest molekulist.

Manustamine

Käesoleva leiutise antikeha sisaldava ravimkoostise, mis on eelistatult steriilse
30 vesilahusena, manustamise võib sooritada mitmel viisil, näiteks suukaudselt, subkutaanselt, intravenoosselt, intranasaalselt, intraoptiliselt, transdermaalselt, paiksel (näiteks geelide, salvide, losjoonide, kreemide jne), intraperitoneaalselt,

intramuskulaarselt, intrapulmonaalselt, vaginaalselt, parenteraalselt, rektaalselt või intraokulaarselt. Mõningatel juhtudel, näiteks haavade, põletiku jne ravimiseks võib antikeha kasutada otse lahuse või spreina. Nagu on praktikas teada, võib ravimkoostise valmistada vastavalt soovitud manustamisviisile.

- 5 Mõningatel juhtudel võib olla eelistatud subkutaanne manustamine, mis võimaldab patsiendil ravimkoostise ise manustada. Paljud valgupõhised ravimid ei ole piisava potentsiaaliga terapeutiliselt efektiivse doosi moodustamiseks subkutaanseks manustamiseks maksimaalselt aktsepteeritavas mahus. Selle probleemi osaliseks lahendamiseks võib kasutada valgu koostisi, mis koosnevad arginiinist-HCl, histidiinist ja polüsorbaadist (vaadake WO 04091658). Käesoleva leiutise antikehad võivad olla sobivamad subkutaanseks manustamiseks, kuna neil on näiteks suurenenud potentsiaal, pikenenud poolestusaeg seerumis või paranenud lahustuvus.

- 15 Nagu on praktikas teada, manustatakse valgupõhised ravimid sageli IV infusiooni või boolusega. Käesoleva leiutise antikehad võib manustada samuti selliseid meetodeid kasutades. Näiteks võib manustamine olla venoosne ja toimuda läbi intravenoosse infusiooni, kasutades infusiooni kandurina 0,9% naatriumkloriidi.

- Pulmonaalse manustamise võib sooritada inhalaatori või pihustiga ning aerosooliks sobivat ainet sisaldava koostisega. Kasutada võib näiteks ettevõtte Aradigm inhaleerimistehnoloogiat AERx® või ettevõtte Nektar Therapeutics pulmonaalse manustamise süsteemi Inhance™. Käesoleva leiutise antikehad võivad sobiva pigem intrapulmonaalseks manustamiseks. Kopsus asuv FcRn võib soodustada transporti kopsust vereringesse (näiteks Syntonix WO 04004798, Bitonti *et al.*, (2004) Proc. Nat. Acad. Sci. 101: 9763-8). Seega võib antikehadel, mis seovad kopsus FcRn-i efektiivsemalt või vabanevad paremini vereringesse, olla pärast intrapulmonaalset manustamist parem biosaadavus. Käesoleva leiutise antikehad võivad sobida intrapulmonaalseks manustamiseks ka paranenud lahustuvuse või muutunud isoelektrilise punkti tõttu.

- 30 Lisaks võivad käesoleva leiutise antikehad sobida suukaudseks manustamiseks, kuna neil on parem stabiilsus sisikonnas valitseva pH tasemel ja parem resistentsus proteolüüsile. Lisaks tundub, et FcRn-i avaldatakse täiskasvanute

sisikonna epiteelis (Dickinson *et al.*, (1999) J. Clin. Invest. 104:903-11), seega parema FcRn interaktsiooniprofiiliga antikehad võivad avaldada pärast suukaudset manustamist paremat biosaadavust. FcRn-i vahendatud antikehade transport võib toimuda ka muudes limaskestas membraanides, näiteks seedetraktis, hingamisteedes ning kuse- ja suguteedes (Yoshida *et al.* (2004) Immunity 20: 769-83).

Lisaks on praktikas teada hulgaliselt manustamissüsteeme, mida käesoleva leiutise antikehade manustamiseks kasutada saab. Näideteks on kapseldamine liposoomidesse, mikroosakestesse, mikrosfääridesse (näiteks PLA/PGA mikrosfääridesse) jne. Alternatiivina võib kasutada poorset, mittepoorsest või geeljast materjalist, k.a membraanidest või kiududest implantaate. Pideva vabanemisega koostised võivad sisaldada polümeerset materjali või maatriksit, näiteks polüestereid, hüdrogeele, polü(vinüülalkoholi), polülaktiide, L-glutaamhappe ja etüül-L-glutamaadi kopolümeere, etüleen-vinüülatsetaati, piimhappeglükoolhappe kopolümeere nagu Lupron Depot® ja polü-D(-)-3-hüdroksübutüürhapet. Samuti saab manustada käesoleva leiutise antikeha kodeeriva nukleiinhappe, näiteks läbi retroviiruse infektsiooni, otsese injektsiooni või katmise lipiidide, rakupinna retseptorite või muude transfektsioonivahenditega. Kõikidel juhtudel võib kontrollitud vabanemisega süsteeme kasutada antikeha vabastamiseks soovitud toimepiirkonnas või selle läheduses.

Doseerimine

Doseeritavad kogused ja manustamissagedus valitakse terapeutilise efektiivsuse alusel. Nagu on praktikas teada, võib vajalikuks osutuda suuruse kohandamine valgu degradatsiooni, süsteemse või lokaliseeritud manustamise ja uue proteaasi sünteesimiskiiruse, nagu ka patsiendi vanuse, kehakaalu, üldise tervisliku seisundi, soo, toitumise, manustamisaja, ravimi interaktsiooni ja haiguse raskuse alusel ning sellised muutused kinnitatakse eriala asjatundjale teadaoleva rutiinse katsetamisega.

Terapeutiliselt aktiivse antikeha kontsentratsioon koostises võib moodustada umbes 0,1 kuni 100% massist. Ühes eelistatud teostuses jääb antikeha kontsentratsioon vahemikku 0,003 kuni 1,0 mooli. Patsiendi ravimiseks võib

manustada käesoleva leiutise antikeha terapeutiliselt efektiivse doosi. Käesolevas leiutises tähistab „terapeutiliselt efektiivne doos“ kogust, mis tekitab toime, mille tekitamiseks see manustati. Täpne doosi suurus sõltub ravi otstarbest ja kinnitatakse eriala spetsialist poolt teadaolevaid tehnikaid kasutades. Doosi suurus

5 võib jääda vahemikku 0,0001 kuni 100 mg/kg kehamassi kohta või rohkem, näiteks 0,1, 1, 10 või 50 mg/kg kehamassi kohta ja eelistatult 1 kuni 10 mg/kg.

Kasutada võidakse ainult ühte antikeha doosi. Samas võib manustada ka mitu antikeha doosi. Manustamiste vahel võib olla vähem kui 1 tund, umbes 1 tund, umbes 1-2 tundi, umbes 2-3 tundi, umbes 3-4 tundi, umbes 6 tundi, umbes 12

10 tundi, umbes 24 tundi, umbes 48 tundi, umbes 2-4 päeva, umbes 4-6 päeva, umbes 1 nädal, umbes 2 nädalat või rohkem kui 2 nädalat.

Käesoleva leiutise antikehad võib manustada metronoomilistel doseerimisrežiimidel pideva infusiooni või regulaarse manustamisega ilma pikenenud vahedeta. Selline metronoomiline manustamine võib hõlmata ilma

15 vahepausideta konstantse intervalliga doseerimist. Tavaliselt hõlmavad sellised režiimid kroonilist madala doosi või pideva infusiooniga manustamist näiteks 1-2 päeva, 1-2 nädala, 1-2 kuu või kuni 6 kuu jooksul või kauem. Väiksemate dooside kasutamine võib vähendada kõrvaltoimeid ja manustamispauside vajadust.

Käesoleva leiutise antikeha ja ühe või mitu profülaktilist või terapeutilist ainet võib

20 manustada patsiendile tsükliliselt. Tsükliline teraapia hõlmab esimese aine manustamist ühel ajahetkel, teise aine manustamist teisel ajahetkel, valikuliselt täiendavate ainete manustamist täiendavatel ajahetkedel, valikuliselt manustamispausi ning selle manustamisjärjekorra kordamist üks või mitu korda. Tavaliselt jääb tsüklite arv vahemikku 2-10. Tsükliline teraapia võib vähendada

25 resistentsuse väljakujunemist ühe või mitme aine vastu, minimeerida kõrvaltoimeid või parandada ravi efektiivsust.

Kombineeritud teraapiad

Käesoleva leiutise ühendid võib manustada koos ühe või rohkema täiendava terapeutilise režiimi või ainega. Täiendavaid terapeutilisi režiime ja aineid võib

30 kasutada antikeha efektiivsuse või ohutuse parandamiseks. Samuti võib

täiendavaid terapeutilisi režiime või aineid kasutad pigem sama haiguse ravimiseks kui antikeha toime muutmiseks. Näiteks võib käesoleva leiutise antikeha manustada patsiendile koos kemoterapia, radiatsiooniteraapia või nii kemoterapia kui ka radiatsiooniteraapiaga. Käesoleva leiutise antikeha võib

5 manustada ka koos ühe või mitme muu profülaktilise või terapeutilise ainega, näiteks tsütotoksiliste ainete, kemoterapeutiliste ainete, tsütokiinide, kasvu inhibeerivate ainete, antihormonaalsete ainete, kinaasi inhibiitorite, antiangiogeensete ainete, kardioprotektantide, immunoloogilisust stimuleerivate ainete, immuunvastust mahasuruvate ainete, hematoloogiliste rakkude

10 proliferatsiooni soodustavate ainete, angiogeneesi inhibiitorite, valgu türosiini kinaasi (PTK) inhibiitorite, täiendavate antikehade, FcγRIIb või muude Fc retseptori inhibiitorite või muude terapeutiliste ainetega.

Mõisted „kombineeritult“ või „koos manustamine“ ei ole piiratud nimetatud profülaktiliste või terapeutiliste ainete manustamisega täpselt samal ajal. Pigem

15 tähendavad need mõisted, et käesoleva leiutise antikeha ja muu aine või ained võib manustada üksteisele järgnevalt ja määratud ajaperioodi jooksul, nii et nende koostoime tekitab kasuliku mõju, mis on suurem kui ainult käesoleva leiutise antikeha või muu aine või ainete kasutamisel esinev mõju. Eelistatult täiendavad

20 antikeha ja teine aine üksteist ning eelistatult on nende toime sünergiline. Sellised molekulid on tavaliselt ravimkoostises koguses, mis on soovitud eesmärgi täitmiseks efektiivne. Kogenud meditsiiniline praktiseerija on võimeline määrama iga terapeutilise aine sobiva doosi või doosid, nagu ka sobivad ajastused ja manustamismeetodid empiirilisel või ainete farmakokineetika ja toimerežiimide alusel.

25 Käesoleva leiutise antikehad võib manustada koos ühe või rohkema täiendava molekuliga, mis antikehasid või Fc sisaldavad. Käesoleva leiutise antikehad võib manustada koos ühe või rohkema täiendava antikehaga, mis on efektiivsed sama haiguse või mõne muu haiguse ravimiseks; näiteks võib manustada kaks antikeha, mis tunnevad ära kaks antud tuumori korral üle avaldatud antigeeni, või kaks

30 autoimmuunse haiguse või nakkushaiguse patogeneesi vahendavat antigeeni.

Käesoleva leiutise antikehadega koos manustamiseks sobivate kasvajakasvaja antikehade näideteks on anti-17-1A rakupinna antigeeni antikehad nagu

Panorex™ (edrekolomaab); anti-4-1BB antikehad; anti-4Dc antikehad; anti-A33 antikehad nagu A33 ja CDP-833; anti- α 4 β 1 integriini antikehad nagu natalisumaab; anti- α 4 β 7 integriini antikehad nagu LDP-02; anti- α V β 1 integriini antikehad nagu F-200, M-200 ja SJ-749; anti- α V β 3 integriini antikehad nagu abtsiksimaab CNTO-95, Mab-17E6 ja Vitaxin™; anti-komplemendi faktori 5 (C5) antikehad nagu 5G1.1; anti-CA125 antikehad nagu OvaRex® (oregovomaab); anti-CD3 antikehad nagu Nuvion® (visilisumaab) ja Rexomab; anti-CD4 antikehad nagu IDEC-151, MDX-CD4, OKT4A; anti-CD6 antikehad nagu onkolüsiin B ja onkolüsiin CD6; anti-CD7 antikehad nagu HB2; anti-CD19 antikehad nagu B43, MT-103 ja onkolüsiin B; anti-CD20 antikehad nagu 2H7, 2H7.v16, 2H7.v114, 2H7.v115, Bexxar® (tositumomaab, I-131 märgistatud anti-CD20), Rituxan® (rituksimaab) ja Zevalin® (Ibritumomaab tiuksetaan, Y-90 märgistatud anti-CD20); anti-CD22 antikehad nagu Lymphocide™ (epratusumaab, Y-90 märgistatud anti-CD22); anti-CD23 antikehad nagu IDEC-152; anti-CD25 antikehad nagu basiliksimaab ja Zenapax® (daklisumaab); anti-CD30 antikehad nagu AC10, MDX-060 ja SGN-30; anti-CD33 antikehad nagu Mylotarg® (gemtusumaabi osogamism), onkolüsiin M ja Smart M195; anti-CD38 antikehad; anti-CD40 antikehad nagu SGN-40 ja toralisumaab; anti-CD40L antikehad nagu 5C8, Antova™ ja IDEC-131; anti-CD44 antikehad nagu bivatusumaab; anti-CD46 antikehad; anti-CD52 antikehad nagu Campath® (alemtusumaab); anti-CD55 antikehad nagu SC-1; anti-CD56 antikehad nagu huN901-DM1; anti-CD64 antikehad nagu MDX-33; anti-CD66e antikehad nagu XR-303; anti-CD74 antikehad nagu IMMU-110; anti-CD80 antikehad nagu galiiksimaab ja IDEC-114; anti-CD89 antikehad nagu MDX-214; anti-CD123 antikehad; anti-CD138 antikehad nagu B-B4-DM1; anti-CD146 antikehad nagu AA-98; anti-CD148 antikehad; anti-CEA antikehad nagu cT84.66, labetusumaab ja Pentacea™; anti-CTLA-4 antikehad nagu MDX-101; anti-CXCR4 antikehad; anti-EGFR antikehad nagu ABXEGF, Erbitux® (tsetuksimaab), IMC-C225 ja Merck Mab 425; anti-EpCAM antikehad nagu Crucelli anti-EpCAM, ING-1 ja IS-IL-2; anti-efriini B2/EphB4 antikehad; anti-Her2 antikehad nagu Herceptin®, MDX-210; anti-FAP (fibroblasti aktiveerimisproteiin) antikehad nagu sibrotusumaab; anti-ferritiini antikehad nagu NXT-211; anti-FGF-1 antikehad; anti-FGF-3 antikehad; anti-FGF-8 antikehad; anti-FGFR antikehad, anti-fibriini antikehad; anti-G250 antikehad nagu WX-G250 ja

Rencarex®; anti-GD2 gangliosiidi antikehad nagu EMD-273063 ja TriGem; anti-GD3 gangliosiidi antikehad nagu BEC2, KW-2871 ja mitumomaab; anti-gpIIb/IIIa antikehad nagu ReoPro; antiheparinaasi antikehad; anti-Her2/ErbB2 antikehad nagu Herceptin® (trastusumaab), MDX-210, ja pertusumaab; anti-HLA antikehad
5 nagu Oncolyn®, Smart 1D10; anti-HM1.24 antikehad; anti-ICAM antikehad nagu ICM3; anti-IgA retseptori antikehad; anti-IGr-1 antikehad nagu CP-751871 ja EM-164; anti-IGF-1R antikehad nagu IMC-A12; anti-IL-6 antikehad nagu CNTO-328 ja elsilimomaab; anti-IL-15 antikehad nagu HuMax™-IL15; anti-KDR antikehad; anti-laminiini 5 antikehad; anti-Lewis Y antigeeni antikehad nagu Hu3S193 ja IGN-
10 311; anti-MCAM antikehad; anti-Muc1 antikehad nagu BravaRex ja TriAb; anti-NCAM antikehad nagu ERJC-1 ja ICRT; anti-PEM antigeeni antikehad nagu Theragyn ja Therex; anti-PSA antikehad; anti-PSCA antikehad nagu IG8; anti-Ptk antikehad; anti-PTN antikehad; anti-RANKL antikehad nagu AMG-162; anti-RLIP76 antikehad; anti-SK-1 antigeeni antikehad nagu Monopharm C; anti-STEAP
15 antikehad; anti-TAG72 antikehad nagu CC49-SCA ja MDX-220; anti-TGF-β antikehad nagu CAT-152; anti-TNF-α antikehad nagu CDP571, CDP870, D2E7, Humira® (adalimumaab) ja Remicade® (infliksimaab); anti-TRAIL-R1 ja TRAIL-R2 antikehad; anti-VE-kadheriin-2 antikehad; ja anti-VLA-4 antikehad nagu Antegren™. Lisaks võib kasutada anti-idiotüüpilisi antikehasid nagu GD3 epitoobi
20 antikeha BEC2 ja gp72 epitoobi antikeha 105AD7. Kasutada võib ka bispetsiifilisi antikehasid nagu anti-GD3/CD20 antikeha Bi20.

Käesoleva leiutise antikehadega autoimmuunse või põletikulise haiguse, transplantaadi hülgamise, GVHD jne ravimiseks koos manustatavate antikehade näideteks on anti-α4β7 integriini antikehad nagu LDP-02, anti-beeta2 integriini
25 antikehad nagu LDP-01, anti-komplemendi (C5) antikehad nagu 5G1.1, anti-CD2 antikehad nagu BTI-322, MEDI-507, anti-CD3 antikehad nagu OKT3, SMART anti-CD3, anti-CD4 antikehad nagu IDEC-151, MDXCD4, OKT4A, anti-CD11a antikehad, anti-CD14 antikehad nagu IC14, anti-CD18 antikehad, anti-CD23 antikehad nagu IDEC 152, anti-CD25 antikehad nagu Zenapax, anti-CD40L
30 antikehad nagu 5c8, Antova, IDEC-131, anti-CD64 antikehad nagu MDX-33, anti-CD80 antikehad nagu IDEC-114, anti-CD147 antikehad nagu ABX-CBL, anti-E-selektiini antikehad nagu CDP850, anti-gpIIb/IIIa antikehad nagu ReoPro/Abcixima, anti-ICAM-3 antikehad nagu ICM3, anti-ICE antikehad nagu

VX-740, anti-FcγR1 antikehad nagu MDX-33, anti-IgE antikehad nagu rhuMab-E25, anti-IL-4 antikehad nagu SB-240683, anti-IL-5 antikehad nagu SB-240563, SCH55700, anti-IL-8 antikehad nagu ABX-IL8, anti-interferoon gamma antikehad ja anti-TNFα antikehad nagu CDP571, CDP870, D2E7, infliksimaab, MAK-195F, 5 anti-VLA-4 antikehad nagu Antegren. Muude Fc sisaldavate molekulide, mille võib autoimmuunse või põletikulise haiguse, transplantaadi hülgamise, GVHD jne ravimiseks koos käesoleva leiutise antikehaga manustada, näideteks on p75 TNF retseptori/Fc fusioon Enbrel® (etanetsept) ja Regeneroni IL-1 lõks.

Antikehade, mille võib nakkushaiguste ravimiseks koos käesoleva leiutise 10 antikehaga manustada, näideteks on antraksivastased antikehad nagu ABthrax, anti-CMV antikehad nagu CytoGam ja sevirumaab, anti-krüptosporiidiumi antikehad nagu CryptoGAM, Sporidin-G, helikobakteri vastased antikehad nagu Pyloran, B-hepatiidi vastased antikehad nagu HepeX-B, Nabi-HB, HIV vastased antikehad nagu HRG-214, RSV vastased antikehad nagu felvisumaab, HNK-20, 15 palivisumaab, RespiGam ning stafülokoki vastased antikehad nagu Aurexis, Aurograb, BSYX-A110 ja SE-Mab.

Alternatiivina võib käesoleva leiutise antikehad manustada koos ühe või rohkema muu molekuliga, mis konkureerivad ühe või mitme Fc retseptoriga seandumisel. Näiteks inhibeeriva retseptori FcγRIIb inhibiitorite kaasnev manustamine võib 20 põhjustada suurenenud efektorfunktsiooni. Samuti võib aktiveerivate retseptorite nagu FcγRIIIa inhibiitoritega koos manustamine minimeerida soovimatut efektorfunktsiooni. Fc retseptori inhibiitorite näideteks on Fc molekulid, mida on muudetud toimimiseks konkureerivate inhibiitoritena FcγRIIb FcγRIIIa või muude Fc retseptoritega seandumisel, nagu ka muud immunoglobuliinid ja täpsemalt 25 ravim, mida kutsutakse IVIg (intravenoosseks immunoglobuliiniks). Inhibiitori võib manustada ja selle toime avaldada enne antikeha manustamist. Alternatiivseks meetodiks üksteisele järgneva doseerimise toime saavutamiseks oleks Fc retseptori inhibiitori kohese vabanemisega doseerimisvormi manustamine ja sellele järgnev käesoleva leiutise antikeha pideva vabanemisega koostise 30 manustamine. Kohese vabanemise ja kontrollitud vabanemisega koostised saaks manustada samaaegselt või liita ühte ühikulisse doosi. FcγRIIb inhibiitori manustamist võidakse kasutada soovimatute immuunvastuste piiramiseks, näiteks

faktori VIII vastase antikeha reaktsiooni piiramiseks pärast faktori VIII manustamist hemofiiliahaigetele.

Käesoleva leiutise antikehad võib manustada koos kemoterapeutilise ainega. „Kemoterapeutilise aine“ all mõeldakse kasvaja ravimiseks kasulikke keemilist

5 ühendit. Kemoterapeutiliste ainete näideteks on alküülivad ained nagu tioteep ja tsüklofosfamiid (CYTOXAN™); alküülsulfonaadid nagu busulfaan, improsulfaan ja piposulfaan; androgeenid nagu kalusteroon, dromostanoolonpropionaat, epitiostanool, mepitiostaan, testolaktoon; anti-adrenaalid nagu aminoglutetimiid, mitotaan, trilostaan; antiandrogeenid nagu flutamiid, nilutamiid, bikalutamiid,

10 leuproliid ja gosereliin; antibiootikumid nagu aklatsinomütsiinid, aktinomütsiin, autramütsiin, asaseriin, bleomütsiinid, kaktinomütsiin, kalihheamütsiin, karabitsiin, kaminomütsiin, karsinofiliin, kromomütsiinid, daktinomütsiin, daunorubitsiin, detorubitsiin, 6-diaso-5-okso-L-norleutsiin, doksorubitsiin, epirubitsiin, esorubitsiin, idarubitsiin, martsellomütsiin, mitomütsiinid, mükofenoolhape, nogalamütsiin,

15 olivomütsiinid, peplomütsiin, potfiromütsiin, puromütsiin, kvelamütsiin, roborubitsiin, streptonigriin, streptosotsiin, tubertsidiin, ubenimeks, tsinostatiin, sorubitsiin; antiöstrogeeni nagu tamoksifeen, raloksifeen, aromataasi inhibeerivad 4(5)-imidasoolid, 4-hüdoksütamoksifeen, trioksifeen, keoksifeen, LY 117018, onapristoon ja toremifeen (Fareston); antimetaboliidid nagu metotreksaat ja 5-

20 fluorouratsiil (5-FU); foolhappe analoogid nagu denopteriin, metotreksaat, pteropteriin, trimetreksaat; asiridiinid nagu bensodoop, karbokvoon, meturedoop ja uredoop; etüleeniimiinid ja metüülamelamiinid, k.a. altretamiin, trietüleeniimelamiin, trietüleeni fosforamiid, trietüleeni ofosfaoramiid ja trimetüülolomelamiin; foolhappe taastaja nagu froliinhape; lämmastikipriidid nagu kloorambutsiil, kloornafasiin,

25 kloorfosfamiid, estramustiin, ifosfamiid, meklooretamiin, meklooretamiinoksiidi vesinikkloriid, melfalaan, noembitsiin, fenesteriin, prednimustiin, trofosfamiid, uratsiilipriit; nitroosuuured nagu karmustiin, klorosotoktsiin, fotemustiin, lomustiin, nimustiin, ranimustiin; plaatina analoogid nagu tsiplatiin ja karboplatiin; vinblastiin; plaatina; valgud nagu arginiini deiminaas ja asparaginaas; puriini analoogid

30 fludarabiin, 5-merkaptopuriin, tiaamipriin, tioguaaniin; pürimidiini analoogid nagu antsitabiin, asatsitidiin, 6-asauridiin, karmofuur, tsütarabiin, dideoksüuridiin, doksifluridiin, enotsitabiin, floksuridiin, 5-FU; taksaanid nagu paklitaksel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J., USA) ja dotsetaksel

(TAXOTERE®, Rhne-Poulenc Rorer, Antony, Prantsusmaa); topoisomeraasi inhibiitor RFS 2000; tümidülaadi süntaasi inhibiitor (näiteks Tomudex); täiendavad kemoterapeutilised ained nagu atseglatoon; aldofosfamiidglükosiid; aminolevuliinhape; amsakriin; bestrabutsiil; bisantreen; edatraksaat; defofamiin; demekoltsiin; diasikvoon; difluorometüülornitiin (DMFO); elformitiin; elliptiiniumatsetaat; etoglütsiid; galliumnitraat; hüdroksüüurea; lentinaan; lonidamiin; mitoguasoon; mitoksantroon; mopidamool; nitrakriin; pentostatiin; fenameet; pirarubitsiin; podofülliiinhape; 2-etüülhüdrasiid; prokarbasiin; PSK®; rasoksaan; sisofuraan; spirogermaanium; tenuasoonhape; triasikvoon; 2,2',2"-triklorotrietüülamiin; uretaan; vindesiin; dakarbasiin; mannomustiin; mitobronitool; mitolaktool; pipobromaan; gatsütosiin; arabinosiid ("Ara-C"); tsüklofosfamiid; tioteep; kloorambutsiil; gemtsitabiin; 6-tioguaaniin; merkaptopuriin; metotreksaat; etoposiid (VP-16); ifosfamiid; mitomütsiin C; mitoksantroon; vinkristiin; vinorelbiin; navelbiin; novantroon; teniposiid; daunomütsiin; aminopteriin; kseloda; ibandronaat; CT-11; retiinhape; esperamütsiinid; kapetsitabiin. Kasutada võib ka iga eelnevalt loetletud ühendi farmatseutiliselt sobivaid soolasid, happeid või derivaate.

Kemoterapeutilise või muu tsütotoksilise aine võib manustada eelravimina. „Eelravimi“ all peetakse silmas farmatseutiliselt aktiivse aine eellasühendit või derivaati, mis on tuumorirakkudele võrreldes lähteühendiga vähem tsütotoksiline ja mille saab ensümaatilisel aktiveerida või aktiivsemaks lätevormiks muuta. Lisateabe saamiseks vaadake näiteks Wilman, 1986, Biochemical Society Transactions, 615th Meeting Belfast, 14: 375-382; Stella *et al.*, "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery," Directed Drug Delivery; ja Borchardt *et al.*, (toimetajad): 247-267, Humana Press, 1985. Eelravimiteks võivad olla fosfaati sisaldavad eelravimid, tiofosfaati sisaldavad eelravimid, sulfaati sisaldavad eelravimid, peptiidi sisaldavad eelravimid, D-aminohappe modifitseeritud eelravimid, glükosüülitud eelravimid, beeta-laktaami sisaldavad eelravimid, valikuliselt asendatud fenoksüatseetamiidi sisaldavad eelravimid või valikuliselt asendatud fenüülatsseetamiidi sisaldavad eelravimid, 5-fluorotsütosiin ja muud 5-fluorouridiini eelravimid, mille saab aktiivsemaks tsütotoksiliseks ravimiks muuta. Tsütotoksiliste ravimite, mille saab käesoleva leiutise

antikehadega kasutamiseks eelravimi vormi deriveerida, näideteks on kõik eelpool mainitud kemoterapeutilised ained, olemata samas nendega piiratud.

Käesoleva leiutise antikehadega võib manustada ka erinevaid muid terapeutilisi aineid. Antikeha võib manustada antiangiogeense aine. „Antiangiogeense aine“ all peetakse siin kasutamisel silmas ühendit, mis blokeerib või takistab mõningal määral veresoonte arengut. Antiangiogeenseks faktoriks võib olla näiteks väike molekul või valk nagu antikeha, Fc fusioon või tsütokiin, mis seondub angiogeneesi soodustamisel osaleva kasvufaktori või kasvufaktori retseptoriga. Käesolevas leiutises on eelistatud antiangiogeenseks faktoriks antikeha, mis seondub vaskulaarse endoteliaalse kasvufaktoriga (VEGF). Kasutada võib ka muid aineid, mis inhibeerivad signalisatsiooni läbi VEGF-i, näiteks RNA-põhiseid ravimeid, mis vähendavad VEGF-i või VEGF-R ekspressiooni, VEGF-toksiini fusioone, Regeneroni VEGF-i lõksu ja VEGF-R siduvaid antikehasid. Ühes alternatiivses teostuses manustatakse käesoleva leiutise antikeha koos terapeutilise ainega, mis indutseerib või võimendab adaptiivset immuunvastust, näiteks antikehaga, mis on suunatud CTLA-4. Täiendavate antiangiogeneetiliste ainete näideteks on angiostatiin (plasminogeeni fragment), antitrombiin III, angiosüüm, ABT-627, Bay 12-9566, benefiin, bevatsisumaab, bisfosfonaadid, BMS-275291, kõhrest deriveeritud inhibiitor (CDI), CAI, CD59 komplemendi fragment, CEP-7055, Col 3, kombretastatiin A-4, endostatiin (kollageen XVIII fragment), farnesüültransferaasi inhibiitorid, fibronektiini fragment, gro-beeta, halofuginoon, heparinaasid, hepariini heksasahhariidi fragment, HMV833, inimese korioonne gonadotropiin (hCG), IM-862, interferoon alfa, interferoon beeta, interferoon gamma, interferooni indutseeritav valk 10 (IP-10), interleukiin-12, kringle 5 (plasminogeeni fragment), marimastaat, metalloproteinaasi inhibiitorid (näiteks TIMPs), 2-metoülestradiool, MMI 270 (CGS 27023A), plasminogeeni aktiveerija inhibiitor (PAI), vereliistaku faktor-4 (PF4), prinomastaat, prolaktiini 16kDa fragment, proliferiiniga seonduv valk (PRP), PTK 787/ZK 222594, retinoidid, solimastaat, skvalamiin, SS3304, SU5416, SU6668, SU11248, tetrahüdrokortisool-S, tetratiomolübdiaat, talidomiid, trombospondiin-1 (TSP-1), TNP-470, transformeeruv kasvufaktor beeta (TGF-(3)), vaskulostatiin, vasostatiin (kalretikuliini fragment), ZS6126 ja ZD6474.

Antikeha võib manustada koos türosiini kinaasi inhibiitoriga. „Türosiini kinaasi inhibiitori“ all mõeldakse molekuli, mis inhibeerib teatud ulatuses türosiini kinaasi aktiivsust. Selliste inhibiitorite näideteks on kinasoliinid, näiteks PD 153035, 4-(3-kloroanilino)kinasoliin; püridopürimidiinid; pürimidopürimidiinid; pürrolopürimidiinid nagu CGP 59326, CGP 60261 ja CGP 62706; pürasolopürimidiinid, 4-(fenüülamino)-7H-pürrolo(2,3-d)pürimidiinid; kurkumiin (diferuloöülmetaan, 4,5-bis(4-fluoroanilino)ftalamiid); nitrotiofeeni fragmente sisaldavad türfostiinid; PD-0183805 (Warner-Lambert); antisenss-molekulid (näiteks molekulid, mis seonduvad ErbB-kodeeriva nukleinhappega); kinoksaliinid (USA patent nr 5 804 396); trüfostiinid (USA patent nr 5 804 396); ZD6474 (Astra Zeneca); PTK-787 (Novartis/Schering A G); pan-ErbB inhibiitorid nagu C1-1033 (Pfizer); Affinitac (ISIS 3521; Isis/Lilly); imatiniibmesülaad (STI571, Gleevec®; Novartis); PKI 166 (Novartis); GW2016 (Glaxo SmithKline); C1-1033 (Pfizer); EKB-569 (Wyeth); Semaxinib (Sugen); ZD6474 (AstraZeneca); PTK-787 (Novartis/Schering AG); INC-1C11 (Imclone); või ühendid, mida on kirjeldatud mõnes järgnevatest patendipublikatsioonidest: USA patent nr 5 804 396; PCT WO 99/09016 (American Cyanamid); PCT WO 98/43960 (American Cyanamid); PCT WO 97/38983 (Warner-Lambert); PCT WO 99/06378 (Warner-Lambert); PCT WO 99/06396 (Warner-Lambert); PCT WO 96/30347 (Pfizer, Inc); PCT WO 96/33978 (AstraZeneca); PCT WO96/3397 (AstraZeneca); PCT WO 96/33980 (AstraZeneca), gefitiniib (IRESSA™, ZD1839, AstraZeneca) ja OSI-774 (Tarceva™, OSI Pharmaceuticals/Genentech).

Antikeha võib manustada koos ühe või mitme immuunvastust moduleeriva ainega. Sellised ained võivad suurendada või vähendada ühe või mitme tsütokiini tootmist, üle- või alareguleerida antigeeni iseesitamist, maskeerida MHC antigeene või soodustada ühe või mitme immuunsüsteemi rakutüübi proliferatsiooni, diferentseerumist, migratsiooni või aktiveerimisolekut. Immuunsust moduleerivate ainete näideteks on: mittesteroidsed põletikuvastased ravimid (NSAID) nagu aspiriin, iboprofeen, tselekoksiib, diklofenak, etodolak, fenoprofeen, indometatsiin, ketoralak, oksaproosiin, nabumentoon, sulindak, tolmentiin, rofekoksiib, naprokseen, ketoprofeen ja nabumetoon; steroidid (näiteks glükokortikoidid, deksametasoon, kortisoon, hüdroksükortisoon, metüülprednisoloon, prednisoon, prednisoloon, trimkinoloon, asulfidiinikosanoidid nagu prostaglandiinid,

trombakseenid ja leukotrieenid; nagu ka paikset manustatavad steroidid nagu antraliin, kaltsipotrieen, klobetasool ja tasaroteen); tsütokiinid nagu TGF β , IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-10; tsütokiini, kemokiini või retseptori antagonistid nagu antikehad, lahustuvad retseptorid ja retseptori-Fc fusioonid BAFF, B7, CCR2, CCR5, CD2, CD3, CD4, CD6, CD7, CD8, CD11, CD14, CD15, CD17, CD18, CD20, CD23, CD28, CD40, CD40L, CD44, CD45, CD52, CD64, CD80, CD86, CD147 ja CD152, komplemendi faktorid (C5, D) CTLA4, eotaksiin, Fas, ICAM, ICOS, IFN α , IFN β , IFN γ , IFNAR, IgE, IL-1, IL-2, IL-2R, IL-4, IL-5R, IL-6, IL-8, IL-9, IL-12, IL-13, IL-13R1, IL-15, IL-18R, IL-23, integriinid, LFA-1, LFA-3, MHC, selektiinid, TGF β , TNF α , TNF β , TNF-R1, T-raku retseptorid, k.a Enbrel® (etanertsept), Humira® (adalimumaab) ja Remicade® (infliksimaab); heteroloogne lümfotsüüdivastane globuliin; muud immuunsust moduleerivad molekulid nagu 2-amino-6-arüül-5 asendatud pürimidiinid, MHC siduvate peptiidide ja MHC fragmentide anti-idiotüüpilised antikehad, asatiopriin, brekvinaar, bromokrüptiin, tsüklofosfamiid, tsüklosporiin A, D-penitsillamiin, deoksüspergualiin, FK506, glutaraaldehyüd, kuld, hüdroksüklorokviin, leflunomiid, malononitriiloamiidid (näiteks leflunomiid), metotreksaat, minotsükliin, misoribiin, mükofenolaatmofetiil, rapamütsiin ja sulfasalasiin.

Käesoleva leiutise antikehad võib manustada koos tsütokiiniga. Käesolevas leiutises peetakse tsütokiini all silmas geneerilist mõistet valkude jaoks, mis on vabastatud üherakulisest populatsioonist ja toimivad mõnel muul rakul intertsellulaarsete vahendajatena. Selliste tsütokiinide näideteks on lümfokiinid, monokiinid ja traditsioonilised polüpeptiidi hormoonid. Tsütokiinide näideteks on kasvuhormoonid nagu inimese kasvuhormoon, N-metionüüli inimese kasvuhormoon ja veise kasvuhormoon; paratüroidi hormoon; türoksiin; insuliin; proinsuliin; relaksiin; prorelaksiin; glükoproteiinide hormoonid nagu foliikuleid stimuleeriv hormoon (FSH), türoidi stimuleeriv hormoon (TSH) ja luteiniseeriv hormoon (LH); hepaatiline kasvufaktor; fibroblasti kasvufaktor; prolaktiin; platsenta laktogeen; tuumori nekroosifaktor alfa ja beeta; mülleriaani-inhibeeriv aine; hiire gonotropiiniga seonduv peptiid; inhibiin; aktiviin; veresoonte kasvu faktor; integriin; trombopoietin (TPO); närvi kasvufaktorid nagu NGF-beeta; trombotsüütide kasvufaktor; transformeerivad kasvufaktorid (TGF) nagu TGF-alfa ja TGF-beeta; insuliinisarnased kasvufaktorid I ja II; erütropoietin (EPO); osteoinduktiivsed

- faktorid; interferoonid nagu interferoon-alfa, -beeta ja -gamma; kolooniaid stimuleerivad faktorid (CSF) nagu makrofaagi CSF (M-CSF), granulotsüüt-makrofaag-CSF (GM-CSF) ja granulotsüüt-CSF (G-CSF); interleukiinid (IL) nagu IL-1, IL-1 alfa, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12, IL-15; tuumori nekroosifaktorid nagu TNF-alfa või TNF-beeta; ja muud polüpeptiidi faktorid nagu LIF ja komplekti ligand (KL). Siin kasutatuna hõlmab mõiste „tsütokiin“ nii looduslikult esinevatest allikatest kui ka rekombinantsest rakukultuurist pärinevaid valke ja looduslikult esinevate järjestuste tsütokiinide bioloogiliselt aktiivseid ekvivalente.
- 5
- 10 Koos käesoleva leiutise antikehaga võib manustada ka tsütokiinid või muud immuunsüsteemi rakkude kasvu stimuleerivad ained. Selline ravimeetod võib parandada soovitud efektorfunktsiooni. Näiteks võib koos käesoleva leiutise antikehaga manustada ained, mis stimuleerivad NK rakke, näiteks IL-2, olemata samas sellega piiratud. Ühes muus teostuses võib koos käesoleva leiutise
- 15 antikehaga manustada makrofaage stimuleerivad ained, näiteks C5a, formüülpeptiidid nagu N-formüül-metionüül-leutsüül-fenüülalaniini (Beigier Bompadre *et al.* (2003) *Scand. J. Immunol.* 57: 221-8). Lisaks võib manustada neutrofiile stimuleerivad ained, näiteks G-CSF, GM-CSF jne. Samuti võib kasutada aineid, mis soodustavad selliste immuunsust stimuleerivate tsütokiinide
- 20 migratsiooni. Ühte või rohkemat efektorfunktsiooni võivad soodustada ka muud ained nagu interferoon gamma, IL-3 ja IL-7, olemata samas nendega piiratud.

Koos käesoleva leiutise antikehaga võib manustada ka tsütokiinid või muud efektorraku funktsiooni inhibeerivad ained. Selline ravimeetod võib piirata soovimatut efektorfunktsiooni.

- 25 Antikeha võib manustada koos ühe või mitme antibiootikumiga, mille näideteks on: aminoglükosiidist antibiootikumid (näiteks apramütsiin, arbekatsiin, bambermütsiinid, butirosiin, dibekatsiin, gentamütsiin, kanamütsiin, neomütsiin, netilmütsiin, paromomütsiin, ribostamütsiin, sisomütsiin, spektrinomütsiin), aminotsükliitoolid (näiteks spektinomütsiin), amfenikoolipõhised antibiootikumid
- 30 (näiteks asidaamfenikool, klooramfenikool, floorfrenikool ja tamfenikool), ansamütsiinipõhised antibiootikumid (näiteks rifamiid ja rifampiin), karbapeneemid (näiteks imipeneem, meropeneem, panipeneem); tsefalosporiinid (näiteks

tsefakloor, tsefadroksiil, tsefamandool, tsefatrisiin, tsefasedoon, tsefosopraan, tsefpimisool, tsefpiramiid, tsefpiroom, tsefprosiil, tsefuroksiin, tsefiksiim, tsefaleksiin, tsefradiin), tsefamütsiinid (tsefbuperasoon, tsefoksitiin, tsefminoks, tsefmetasool ja tsefotetaan); linkoosamiidid (näiteks klindamütsiin, linkomütsiin);

5 makroliid (näiteks asitromütsiin, brefeldiin A, klaritromütsiin, erütromütsiin, roksitromütsiin, tobramütsiin), monobaktaamid (näiteks astreonaam, karumonaam ja tigemonaam); mupirotsiin; oksatsefeemid (näiteks flomoksef, latamoksef ja moksalaktaam); penitsilliinid (näiteks amdinotsilliin, amdinotsilliini pivoksiil, amoksitsilliin, bakampitsilliin, beksüülpenitsilliinhape, bensüülpenitsilliinnaatrium,

10 epitsilliin, fenbenitsilliin, floksatsilliin, penametsilliin, penetamaathüdriodiid, penitsilliin o-benetamiin, penitsilliin O, penitsilliin V, penitsilliin V bensoaat, penitsilliin V hüdrabamiin, penimepitsükliin ja fentsihitsilliinkaalium); polüpeptiidid (näiteks batsitrasiin, kolistiin, polümüksiin B, teikoplaniin, vankomütsiin); kinoonid (amifloksatsiin, tsinoksatsiin, tsiprofloksatsiin, enoksatsiin, enrofloksatsiin,

15 feroksatsiin, flumekiin, gatifloksatsiin, gemifloksatsiin, grepafloksasiin, lomefloksatsiin, mokifloksatsiin, nalidikshape, norfloksatsiin, ofloksatsiin, oksoliinhape, pefloksatsiin, pipemiidhape, rosoksatsiin, rufloksatsiin, sparfloksatsiin, temafloksatsiin, tosufloksatsiin, trovafloksatsiin); rifampiin, streptograminid (näiteks kinupristiin, dalfopristiin); sulfoonamiidid (sulfaniilamiid,

20 sulfametoksasool); tetratsükleenid (kloortetratsükliin, demeklotsükliini vesinikkloriid, demetüülkloortetratsükliin, doksütsükliin, duramütsiin, minotsükloon, neomütsiin, oksütetratsükliin, streptomütsiin, tetratsükliin ja vankomütsiin).

Kasutada võib ka seenhaiguste vastaseid aineid nagu amfoteritsiin B, tsiklopiroksi, klotrimasooli, ekonasooli, flukonasooli, flutsütosiini, itrakonasooli, ketokonasooli,

25 nikonasooli, nüstatiini, terbinafiini, terkonasooli ja tiokonasooli.

Kasutada võib ka viirusevastaseid aineid nagu proteaasi inhibiitoreid, pöördtranskriptaasi inhibiitoreid ja sarnaseid aineid, k.a I tüübi interferoone, viirusfusiooni inhibiitoreid ja neuramidaasi inhibiitoreid. Viirusevastaste ainete näideteks on atsükloviir, adefoviir, amantadiin, amprenaviir, klevadiin, enfurvirtiid,

30 entekaviir, foskamet, gangtsükloviir, idoksuriidiin, indinaviir, lopinaviir, pekonariil, ribaviriin, rimantadiin, ritonaviir, sakvინaviir, trifluridiin, viradabiin ja sidovudiin.

Käesoleva leiutise antikehad võib manustada koos mõne muu terapeutilise ravirežiimiga. Näiteks võib patsient, kellele käesoleva leiutise antikeha manustatakse, saada ka kiiritusravi. Kiiritusravi võib toimuda vastavalt praktikas tavaliselt kasutatavatele ja asjatundjale teadaolevatele protokollidele. Sellise

5 teraapia näideteks on tseesium-, iriidium-, jood- või koobaltradiatsioon. Radiatsiooniteraapiaks võib olla kogu keha kiiritamine või võib see olla suunatud lokaalselt kindlale piirkonnale või koele, näiteks kopsu, põie või eesnäärme kiiritamine. Tavaliselt manustatakse radiatsiooniteraapia impulssidena 1 kuni 2 nädala jooksul. Kuid radiatsiooniteraapia võib toimuda ka pikemate perioodide

10 jooksul. Näiteks võib pea ja kaela kasvajaga patsiendi radiatsiooniteraapia kesta umbes 6 kuni umbes 7 nädalat. Radiatsiooniteraapia võib toimuda valikuliselt ühe doosi või mitme järjestikkuse doosina. Kogenud praktiseerija on võimeline määrama käesoleva leiutise eesmärkidel kasuliku radiatsiooniteraapia doosi või dooside suuruse empiiriliselt. Käesoleva leiutise antikeha ja ühte või rohkemat

15 muud kasvjavastast teraapiat võib kasutada kasvajarakkude ravimiseks *ex vivo*. Selline *ex vivo* ravi võib olla kasulik luuüdi siirdamisel ja eriti autoloogse luuüdi siirdamisel. Näiteks kasvajarakke sisaldavate rakkude või kudede ravi käesoleva leiutise antikeha ja ühe või rohkema muu kasvjavastase teraapiaga (näiteks eelpool kirjeldatutega) võib kasutada kasvajarakkude neutraliseerimiseks või

20 põhimõtteliseks neutraliseerimiseks enne patsiendile siirdamist.

Loomulikult on käesolevasse leiutisse kaasatud käesoleva leiutise antikehade võimalik kasutamine muude terapeutiliste tehnikate nagu kirurgia või fototeraapiaga.

NÄITED

25 Järgnevad näited on lisatud käesoleva leiutise täiendavaks selgitamiseks. Need näited ei ole mõeldud käesoleva leiutise ühegi kasutusotstarbe või teoreetilise kasutamise võimaluse piiramiseks.

Immunoglobuliini varieeruva piirkonna mainimisel on positsioonid nummerdatud Kabati nummerdusskeemi alusel. Immunoglobuliini raske ahela konstantse

30 piirkonna positsioonide nummerdus vastab Kabati EU indeksile (Kabat *et al.*,

1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, V trükk, United States Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, USA).

Näide 1. Anti-CD19 antikehad koos efektorfunktsiooni võimendavate aminohappe modifikatsioonidega

- 5 Käesoleva leiutise anti-CD19 antikehad on kasvajakavastaste ravimite kliinilisteks kandidaatideks. CD19-le suunatud antikeha efektorfunktsiooni võimalikkuse uurimiseks loodi anti-CD19 antikehade variantversioonid.

Joonisel Fig 6 on kujutatud mõningaid käesolevas analüüsis kasutatud anti-CD19 antikehade 4G7 (Meeker, T.C. *et al.* 1984. Hybridoma. 3: 305-320) ja HD37 (Pezzuto, A. *et al.* 1987. J. Immunol. 138: 2793-2799) raske ja kerge ahela varieeruvaid piirkondi. Hiire ning lähteühendi rasked ja kerged ahelad on tähistatud vastavalt kui H0 4G7, H0 HD37, L0 4G7 ja L0 HD37. Käesoleva leiutise variandid võib valmistada ka anti-CD19 antikeha B43 kontekstis (Uckun, F.M. *et al.* 1998. Blood. 71: 13-29), mille omadused sarnanevad HD37 ja mille CDR-id on
15 identsed ning kogujärjestus 97% ulatuses identne joonisel Fig 6 kujutatud HD37 H0 ja L0 järjestustega. Hiire MT 4G7 ja HD37 VH ja VL geenid, mis on tähistatud vastavalt kui H0 ja L0, valmistati geenisünteesi tehnikatega ja alamklooniti inimese ekspressioonivektorisse pcDNA3.1Zeo (Invitrogen), mis sisaldas täispika kerge kapp (C_k) ja raske ahela IgG1 konstantseid piirkondi. Variant S239D/I332E
20 (parema efektorfunktsiooniga anti-CD19) valmistati hübriidantikeha IgG1/IgG2 (tähistatud joonisel Fig 2 kui hübriid) Fc piirkonnas pcDNA3.1Zeo vektoris QuikChange mutageneesi tehnikatega (Stratagene). Kõikide järjestuste struktuurid määrati järjestuse kokkulangevuse kinnitamiseks. Raske ahela geeni (VH-CH1-CH2-CH3) (metsiktüüp või variant) sisaldavad plasmiidid transfekteeriti koos kerge
25 ahela geeni (VL-CL_k) sisaldava plasmiidiga 293T rakkudesse. Sööde koguti 5 päeva pärast transfektsiooni ning antikehad puhastati ülemisest vedelikukihist valgu A afiinsuskromatograafiaga (Pierce, kataloogi nr 20334).

Seejärel arvutati 4G7 hübriidi S239D/I332E ja 4G7 IgG1 antikeha suhtelised sidumisasiinsused, määrates sidumisparameetrid Biacore™ komplektiga erinevaid
30 Fc retseptoreid kasutades (joonis Fig 7). Lühidalt, valk A/G liideti CM5 kiibi vooluelemendil. IgG lahjendati esmalt 25 nM kontsentratsioonini ja immobiliseeriti

efektiivsuse paranemisi. Kimäärse IgG1 antikeha efektiivsus või potentsiaal oli väga madal.

Joonisel Fig 8 kujutatud doosi-reaktsiooni kõvera EC50 kujutab ühendi kontsentratsiooni, mille juures täheldati 50% selle maksimaalsest toimest. 5 Kliinilises kontekstis peegeldab potentsiaal antikeha kontsentratsiooni, mis on vajalik selle terapeutilise toime tekitamiseks. Seega kujutavad joonisel Fig 8 avaldatud andmed Fc-ga optimeeritud anti-CD19 antikehade *in vivo* toimet kontsentratsioonil või doosi suurusel, mis on madalam kui MT anti-CD19 või anti-CD20 antikeha vastav näitaja. Joonisel Fig 8b kujutatud andmed näitavad, et kui 10 MT IgG21 anti-CD19 küllastav kontsentratsioon vahendas umbes 10% maksimaalsest ADCC-st, lahustas anti-CD19 Fc variant umbes 60% märklaudrakkudest. Kliinilises kontekstis tähistab efektiivsus manustatud ravimist saadud maksimaalset terapeutilist kasu.

15 Näide 2. Täiustatud efektorfunktsioonidega anti-CD19 antikeha seondumine B-rakust deriveeritud tuumori rakuliiniga

Möödeti 4G7 hübriidi S239D/I332E suhteline seondumine Raji rakuliiniga. Parema efektorfunktsiooniga anti-CD19 variantide afiinsused määrati DELFIA® süsteemiga (PerkinElmer Life Sciences), mis põhines ajapõhisel fluoromeetrial (TRF). Anti-CD19 (H0L0) märgistati PerkinElmer Biosciences Eu- 20 märgistuskomplekti kasutades euroopiumiga. Märgistamata metsiktüüp (MT) või variandid (külm) lahjendati seeriaviisiliselt (alustades tavaliselt 1 uM) 1/2 logaritmi etappides ning segati märgistatud (või kuuma) anti-CD19 fikseeritud kontsentratsiooniga. „Kuumade“ ja „külmade“ antikehade segu lisati seejärel 100 000 Raji rakule (millel on suur pinnal avaldatud CD19 antigeeni tihedus) ning 25 inkubeeriti 30 minutit jääl. Analüüsi rakendati põhimõtteliselt konkureerimisanalüüsina erineva afiinsusega anti-CD19 antikehade leidmiseks. Konkureerivate afiinsusvariantide puudumisel omasid Eu-anti-CD19 ja pinna CD19 vastasmõju ning tekitasid juhul, kui euroopium ergastati 340 nm juures, signaali 613 nm juures. Metsiktüübi või variandi lisamisel konkureeris see Eu-anti-CD19- 30 CD19 interaktsiooniga, vähendades kvantitatiivselt fluorestsentsi, mis võimaldas suhtelise seondumisasiinsuse määramist. Joonisel Fig 9 on kujutatud võimendatud

mis võib hõlmata neutraliseerivate ja mitteneutraliseerivate antikehade loomist, immuunkomplekside moodustamist, komplemendi aktiveerimist, nuumrakkude aktiveerimist, põletikku, ülitundlikkuse reageeringuid ja anafülaksiat. Valgu immunogeensust võivad soodustada mitmed faktorid, k.a valgu järjestus, manustamisviis ja -sagedus ning patsient. Immunogeensus võib piirata valgu efektiivsust ja ohutut kasutamist mitmel viisil. Neutraliseerivate antikehade moodustamine võib efektiivsust otseselt vähendada. Efektiivsus võib väheneda ka kaudselt, kuna seandumine neutraliseerivate või mitteneutraliseerivate antikehadega põhjustab tavaliselt kiire kadumise seerumist. Immuunvastuse tekkimisel võib esineda raskekujulisi kõrvaltoimeid või isegi surmajuhtumeid. Seega ühes eelistatud teostuses kasutatakse käesoleva leiutise CD19 blokeerivate valkude immunogeensuse vähendamiseks valkude muutmist.

Käesoleva leiutise anti-CD19 valkude potentsiaalse immunogeensuse vähendamiseks vähendati anti-CD19 antikehade 4G7 ja HD37 immunogeensust meetodiga, mida on kirjeldatud USA patendis nr 2006/0008883 pealkirjaga "Methods of Generating Variant Proteins with Increased Host String Content and Compositions Thereof", mis esitati 6. detsembril 2004. Selline meetod vähendab immunogeensuse potentsiaali, suurendades läbi mutatsioonide antikeha inimese stringi osakaalu. Vähenenud immunogeensuspotentsiaaliga rasked ja kerged ahelad on tähistatud kui H1, H2, H3, H4 jne ning L1, L2, L3 jne ja avaldatud joonistel Fig 11 kuni 14. Algsete antikehade 4G7 ja HD37 rasked ja kerged ahelad on tähistatud vastavalt kui H0 ja L0. Avaldati erinevaid raskete ning kergete ahelate kombinatsioone ning saadud antikehad, mis tähistati kui H3L3, H3/L3 või H3_L3 puhastati ja analüüsiti. Anti-CD19 antikehad avaldati raskeid ja kergeid ahelaid kodeerivate vektorite põgusa transfektsiooniga 293T rakkudesse, mida oli kasvatatud 10% ultramadala IgG sisaldusega veise looteserumis koos 1 mM naatriumpüruvaadi ja 1X ebaoluliste aminohapetega (Gibco®, Invitrogen Hayward CA, USA). Viis päeva pärast transfektsiooni kultuursööde eemaldati ja juhiti läbi valgu A kolonni (Pierce Biotechnology Inc, Rockford MD, USA). Rasked ahelad võivad olla valmistatud mistahes tüüpi konstantse domääniga, k.a inimeste korral IgG1, IgG2 ja IgG1 ja IgG2 sisaldavad hübriidid, nagu ka hiire konstantsete domäänidega IgG1 ja IgG2a, mis võivad olla tähistatud kui mIgG1 ja mIgG2a. Inimese raske ahela järjestused on avaldatud joonisel Fig 2. Mõõdeti vähenenud

immunogeensusega anti-CD19 variantide suhteline seondumine Raji rakuliiniga. Vähenenud afiinsusega anti-CD19 variantide afiinsused määrati DELFIA® süsteemiga (PerkinElmer Life Sciences), mis põhines ajapõhisel fluoromeetriaal (TRF). Anti-CD19 on märgistatud euroopiumiga PerkinElmer Biosciences Eu-
5 märgistuskomplekti kasutades. Märgistamata metsiktüüp (MT) või variandid (külm) lahjendati seeriaviisiliselt (alustades tavaliselt 1 uM) 1/2 logaritmi etappides ning segati märgistatud (või kuuma) anti-CD19 fikseeritud kontsentratsiooniga. „Kuumade“ ja „külmade“ antikehade segu lisati seejärel 100 000 Raji rakule (millel on suur pinnal avaldatud CD19 antigeeni tihedus) ning inkubeeriti 30 minutit jääl.
10 Analüüsi rakendati põhimõtteliselt konkureerimisanalüüsina erineva afiinsusega anti-CD19 antikehade leidmiseks. Konkureerivate afiinsusvariantide puudumisel omasid Eu-anti-CD19 ja pinna CD19 vastasmõju ning tekitasid juhul, kui euroopium ergastati 340 nm juures, signaali 613 nm juures. Metsiktüübi või variandi lisamisel konkureeris see Eu-anti-CD19-CD19 interaktsiooniga,
15 vähendades kvantitatiivselt fluorestsentsi, mis võimaldas suhtelise seondumisasiinsuse määramist. Joonisel Fig 15a on kujutatud vähenenud immunogeensusega 4G7 variantide rakupinna sidumisanalüüsi tulemusi Raji rakkudel. Sidumisasiinsuse ja stabiilsuse alusel valiti täiendavateks uuringuteks varieeruv piirkond 4G7 H1L1. Joonisel Fig 15b on kujutatud vähenenud
20 immunogeensusega matriitside HD37_H2L1 hübriidi S239D/I332E ja 4G7_H1L3 hübriidi S239D/I332E ADCC analüüsi tulemusi rakuliinil MEC-1 (CLL). ADCC analüüs sooritati vastavalt eelnevates analüüsides kirjeldatule. Mõlemad antikehad olid sellel rakuliinil aktiivsed ning seega potentsiaalseteks CLL-i ravimiteks.

25 Näide 5. Täiustatud efektorfunktsiooniga anti-CD19 afiinsuse ja stabiilsuse parandamine

4G7 mAb H1L1 afiinsuse küpsemine toimus nii CD19 sidumisasiinsuse kui ka ADCC potentsiaali täiendavaks suurendamiseks. Afiinsuse küpsemine toimus kolmes etapis arvutiseeritud/valkude muutmise meetodit kasutades. Esiteks, kasutades hüpoteesi, et spetsiifilisust määravad jäägid (SDR) (Padlan, E.A. *et*
30 *al.*,1995 FASEB, J. 9: 133-139) antikeha CDR-ides on B-rakkude poolt *in vivo* somaatilise hüpermutatsiooni käigus juba optimeeritud, loodi 94 variandiga pank, et määrata antigeeni sidumisel kriitilist tähtsust omavad CDR-i jäägid, mida

geneetilise muutmise protsessi käigus muuta ei tohiks. See pank koosnes ühest või kahest „sondeerivast“ mutatsioonist, mis olid tehtud CDR-ide positsioonidel, mille valimiseks kasutati nii struktuurset modelleerimist kui ka võimalust, et see positsioon on sageli SDR, mida on analüüsitud valgu andmepanga (PDB) saadaval olevate antigeen-antikeha kompleksi struktuuride analüüsides (MacCallum, R.M. *et al.* 1996. JMB 262: 732-745; Almagro, J.C. 2004. J. Mol. Recognit. 17: 132-143).

Variantmutatsioonid sisestati H1L1 matriitsi Fab vormis QuikChange mutageneesikomplektiga ning need sisaldasid 6X-His märgist. Fab-ide variante avaldati 293T rakkudes 24-reservuaariga plaate kasutades, analüüsiti AlphaScreen või voolutsütomeetria analüüsiga Raji või RS4;11 rakke kasutades ning iga variandi kontsentratsioon määrati Biacore™ His-siduva kiibiga. 50 positsiooni hulgast määrati 17 positsiooni, mis olid antigeeni sidumiseks kriitilise tähtsusega ja see võimaldas vähendada panga suurust järgmises afiinsuse küpsemise etapis ning andis väärtuslikke struktuurseid andmeid antigeeni pinna lähedal asuvate positsioonide ning potentsiaalsete märklaudade kohta suurenenud afiinsusega variantide leidmiseks. Selles analüüsis määratud 17 SDR-i olid suurepäraselt vastavuses antikehade, mille antigeeni-antikeha kompleksid on määratud, keskmise SDR-ide arvuga (Almagro, J.C. 2004. J. Mol. Recognit. 17:132-143). Lisaks sellest pangast saadud väärtuslikele struktuuriandmetele saadi ka mõned suurenenud afiinsusega variandid.

Ülejäänud 33 CDR-i positsiooni reastati esimeste panga tulemuste analüüsi ning SDR-ide kaardistamise põhjal H1L1 matriitsi struktuursele mudelile olulisuse alusel. Selle analüüsiga leiti, et peaaegu kogu antigeeni-antikeha sidumispinda on võimalik uurida ning aminohapete kogusageduseks positsiooni kohta oli 12,2 (umbes 9,3 uut varianti positsiooni kohta), mis andis teise etapi panga suuruseks 279 varianti. Variantide optimeeritud panga, mida seadistati soovitud variantide arvu alusel nii soovitud variantide elujõu kui ka kattumise põhjal, loomiseks kasutati meetodit Library Design Automation (LDA™) (USA patent nr 2006/0234303, esitati 3. märtsil 2006). Lõplik teise etapi pank sisaldas suure jõudlusega vormi reguleerituna 30 positsioonil asuvat 265 varianti. Selles pangas asus mitu varianti, millel oli suurenenud sidumisafiinsus. Anti-CD19 Fab variante

analüüsiti afiinsuse määramiseks voolutsütomeetriaga. Rakuliin RS4;11, mis teati CD19 avaldavat, suspendeeriti PBS-is ning kanti tihedusega 200 000 rakku/reservuaari kohta 96 reservuaariga ümara põhjaga plaadile. RS4;11 rakkudele lisati teadmatu kontsentratsiooniga CD19 antikehade seeriaviisiline lahjendus. Rakke inkubeeriti 30 minutit jääl ning pesti seejärel 4 korda PBS-iga. Anti-Fab PE-märgistatud F(ab')₂ lahjendati PBS-is suhtes 1/50 ja saadud lahust kasutati seejärel anti-CD19 Fab-iga kaetud RS4;11 uuesti suspendeerimiseks. Rakke inkubeeriti 30 minutit ja pesti kaks korda. Rakud fikseeriti seejärel ja sidumisanalüüsi hinnati FACS Canto II voolutsütomeetriga. Sidumise tiheduse mõõtmiseks kasutati MFI-d. Nii pangast 1 kui ka 2 saadi kokku 30 suurenenud afiinsusega üksikut varianti, mis asusid 11 positsioonil.

Nii esimese kahe panga sidumisandmete analüüs kui ka täiendav struktuuri analüüs võimaldas luua kolmanda ja lõpliku panga, mis sisaldas 2-8 üksiku variandi kombinatsioone. See pank koosnes 8 positsioonil esinevast 149 variandist. Nende variantide hulgast 20 demonstreerisid olulist afiinsuse suurenemist ja valiti konversiooniks täispikka vormi, et mõõta samaaegselt nii sidumisafiinsust kui ka ADCC-d. Lahustuvusomaduste hindamiseks sooritati nende variantide stabiilsusanalüüsid. Lõplikuks 20 variandis olevaks mutatsioonide lõplikuks komplektiks olid raske ahela variandid T57P, K58E, S100cT ja R100dS ning kerge ahela variandid L27cQ, S27eV, A55N, F961 ja F96N. Kiirendatud stabiilsusuuringud näitasid, et vähemalt üks afiinsust parandavatest mutatsioonidest põhjustas valgu ebastabiilsust ning sellised variandid kaotasid kogu potentsiaali kõigest 8 tunni möödudes temperatuuril 37 °C. Arvestades ka sidumise ja stabiilsuse andmeid, valiti lõplik kypse afiinsusega kandidaat-mAb, mille sidumisafiinsus RS4;11 rakkudel oli umbes 10 korda suurem kui H1L1 mAb (joonis Fig 16). Loodi ja analüüsiti ka variandid, mis olid mõeldud anti-CD19 molekuli pikaajalise stabiilsuse suurendamiseks. Joonisel Fig 17 on kujutatud 5 päeva temperatuuril 37 °C pH 9,0 200 mM Tris-HCl-is inkubeeritud variantide sidumisandmeid, mis demonstreerivad anti-CD19 variandi paranenud stabiilsust.

Kõik stabiilsuse ja/või afiinsuse parandamiseks tehtud üksikud asendused on avaldatud joonisel Fig 27. Joonisel Fig 28 on loetletud kõik anti-CD19 varieeruva

piirkonna variandid, mis on loodud afiinsuse ja stabiilsuse optimeerimiseks. Joonisel Fig 29 on loetletud eelistatud variandid ja sidumisafiinsuse suhteline suurenemine võrreldes lähteantikehast H1L1 mAb-ga. Joonisel Fig 18 on kujutatud eelistatud parema afiinsuse ja/või stabiilsusega raske ahela variantide järjestusi. Joonisel Fig 19 on kujutatud eelistatud parema afiinsuse ja/või stabiilsusega kerge ahela variantide järjestusi. Täispikkade hübriidsete S239D/I332E variantide, mis sisaldavad paranenud afiinsuse ja stabiilsusega muutuvaid piirkondi, aminohappejärjestused on avaldatud kui SEQ ID NO: 86-110. Paranenud afiinsuse ja stabiilsusega CDR-id on avaldatud kui SEQ ID NO: 111-10 131.

Näide 6. 4G7 hübriidi S239D/I332E antiproliferatiivsed omadused Raji rakkudel

Antiproliferatiivse toime *in vitro* vaatlemiseks vajavad paljud antikehad ristsidumist, mis sooritatakse tavaliselt sekundaarse antikehaga. Välja on pakutud, et nende antikehade vastavad *in vivo* toimed võivad sõltuda efektorrakkude pinnal avaldatud Fc retseptorite vahendatud ristsidumisest. Selles analüüsis kasvatati Raji rakke 3 päeva 100 ng/ml 4G7 hübriidi S239D/I332E, 4G7 IgG1 või anti-CD20 (rituksimaabi) või kontrollantikehade (mitte-CD19 siduv varieeruv piirkond koos hübriidsete S239D/I332E variantide Fc-ga) erinevate kontsentratsioonide juuresolekul ristsiduva antikeha 10x molaarset liigsust kasutades. Rakukasv 15 mõõdeti ATP sõltuva luminescentsanalüüsiga. Antiproliferatsiooni analüüsi tulemused on avaldatud joonisel Fig 20. Nii 4G7 hübriid S239D/I332E kui ka 4G7 IgG1 demonstreerisid tugevamaid antiproliferatiivseid toimeid kui rituksimaab.

Näide 7. 4G7 stabiilsuse ja täiustatud hübriidi S239D/I332E antiproliferatiivsed omadused SU-DHL-6 rakkudele

25 Selles analüüsis kasvatati SU-DHL-6 rakke 3 päeva humaniseeritud 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidi S239D/I332E ja kontrollantikehade erinevate kontsentratsioonide juuresolekul 10x ristsiduva antikeha molaarse liigsusega ja tihedusega 6000 rakku/reservuaari kohta fikseeritud antikeha kontsentratsiooniga 3000 rakku/reservuaari kohta - 72 tunni jooksul mõõdeti teatud ajahetkedel 30 rakkude elujõudu. Antiproliferatsiooni analüüsi tulemused on avaldatud joonisel Fig 21. 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriid S239D/I332E demonstreeris

tugevamat antiproliferatiivset toimet kui rituksimaab. 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriid S239D/I332E demonstreeris antiproliferatiivseid toimeid ka ristsiduva antikeha puudumisel.

Näide 8. Raji ja RS4;11 rakkude fagotsütoos 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidiga S239D/I332E

5

Erinevalt NK rakkudest, mis avaldavad ainult FcγRIIIa ja mõnikord ka FcγRIIc, avaldavad monotsüüdid ning monotsüüdist deriveeritud efektorrakud erinevaid FcγR-e, k.a FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb ja FcγRIIIa. Seega võib monotsüüdist deriveeritud efektorrakkude, k.a näiteks makrofaagide, aktiveerimine ja funktsioon sõltuda antikeha immuunkomplekside liitumisest muude retseptoritega peale FcγRIIIa. Nagu on kirjeldatud patendis PCT WO 2007/041635, Desjarlais J.R. *et al.*, mis esitati 3. oktoobril 2006, vahendatakse makrofaagide poolset fagotsütoosi osaliselt läbi antikeha liitumise FcγRIIa.

10

15

4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidi S239D/I332E fagotsütoosi vahendava võime hindamiseks sooritati voolutsütomeetria põhine fagotsütoosi analüüs. Puhastatud CD14+ monotsüüte kultuuristati makrofaagide diferentseerimiseks 5 päeva niiskes inkubaatoris makrofaagi kolooniaid stimuleeriva faktoriga (50 ng/ml). Märklaudadena kasutati RS4;11 või Raji rakke. Märklaudrakud märgistati tootjapoolseid juhiseid kasutades PKH67-ga (Sigma).

Rakud lisati 96 reservuaariga plaadile ning seejärel lisati MT ja Fc modifitseeritud anti-CD19 antikehade seeriaviisilised lahjendused. Järgnevalt lisati reservuaaridesse monotsüüdist deriveeritud makrofaagid nii, et efektori suhe märklauda oli 4:1. Need analüüsid sooritati inimese seerumi juuresolekul. Rakkude kooskultuuri tsentrifugeeriti lühidalt ning inkubeeriti seejärel 4 tundi niisutatud inkubaatoris. Rakud koguti ning makrofaagid värviti märklauast eristamiseks teise fluorestsentsvärviga. Rakud fikseeriti seejärel 1% PFA-s ja fagotsütoosi hinnati FACS Canto II voolutsütomeetriga. Fagotsütoosi tulemus määrati läbi topeltpositiivsete rakkude aru jagamise tuumorirakkude koguarvuga. Fagotsütoosi analüüsi tulemused on avaldatud joonisel Fig 22. 4G7 paranenud stabiilsuse ja afiinsusega hübriid S239D/I332E demonstreeris võrreldes IgG1 anti-CD19 antikehaga mõlemas rakuliinis suurenenud fagotsütoosi taset.

25

30

Makrofaagid on fagotsüüdid, mis toimivad surnud rakkude, võõrkehade ja muu rakuprügi püüdurmehhanismidena. Oluline on, et makrofaagid on spetsialiseerunud antigeeni esitavad rakud (APC), mis püüavad perifeersetes kudedes patogeene ja võõrkehasid ning migreeruvad seejärel sekundaarsetesse lümfoidi organismidesse, kus need aktiveerivad läbi naiivsete T-rakkude aktiveerimise adaptiivse immuunvastuse. Seega võimaldavad eelneva katse tulemused soovitada, et anti-CD19 antikehade modifitseerimine võib võimaldada toimemehhanisme, mis hõlmavad nii loomupäraseid tsütotoksilisi efektorfunktsioone, kui ka efektorfunktsioone, mis põhjustavad potentsiaalselt pikaajalist adaptiivset immuunvastust.

Näide 9. 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidi S239D/I332E ADCC andmed hulgilümfoomi rakuliinide vastu puhastatud looduslikult esinevaid tapjarakke kasutades

4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidi S239D/I332E tsütotoksiliste omaduste hindamiseks sooritati ADCC analüüsid, kasutades kuut erinevat lümfoomide ja leukeemite rakuliini (joonis Fig 23). Puhastatud NK rakke rakendav ADCC sooritatakse 96 reservuaariga mikrotiitrimisplaadis. NK rakud puhastati inimese PBMC-st ettevõtte Miltenyi Biotec komplektiga (kataloogi nr 130-091-152) ja inkubeeriti öö läbi 10% FBS-is/RPMI1640-s koos 10 ng/ml IL-2. Järgmisel päeval opsooniti 10 000 (WaC3CD5, Namalwa, Bonna-12, Ramos) või 20 000 (RS4;11, BV-173) kasvaja märklaudrakku erinevate antikeha kontsentratsioonidega ja iga antikeha kontsentratsiooni jaoks kasutati kolmes kordused 50 000 NK rakku. Märklaudrakke pesti kolm korda, samas kui NK rakke pesti kaks korda RPMI1640 ning mõlemad rakutüübid suspendeeriti 1% FBS-i/RPMI1640 segus ning lisati antikeha lahustele. Pärast 4 tundi kestnud temperatuuril 37 °C niisutatud inkubaatoris 5% CO₂ inkubeerimist kvantifitseeriti analüüs ettevõtte Promega (#PAG7891) LDH sõltuva CytoTox-One fluorestsentsist sõltuva tuvastussüsteemiga. Kogu LDH signaal määrati Triton-X100 lahustatud märklaudrakkudest (kogu märklaua LDH) ning seda väärtust kasutati normaliseerimiseks spontaanse LDH tausta (spontaanne taust) katseväärtuste vastu. Seega %ADCC = ((eksperimentaalne väärtus – spontaanne taust))/(kogu märklaua LDH - märklaua LDH)* 100. Spontaaneks

taustväärtuseks oli antikeha puudumisel koos inkubeeritud märklaua ja NK rakkudega saadud väärtus. Märklaua LDH on väärtus, mis saadi ainult märklauast kasvajarakkudega, mis vabastasid inkubeerimise käigus spontaanselt LDH-d. Joonisel Fig 23 on kujutatud ADCC tulemused – tegemist on 6 rakuliini analüüsiga, kasutades 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidi S239D/I332E, 4G7 IgG1 (optimeeritud afiinsuse/stabiilsusega varieeruva piirkonnaga), rituksimaabi (anti-CD20) ja isotüübi kontrollantikeha. Kõikides analüüsitud rakuliinides olid 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidi S239D/I332E potentsiaali ja efektiivsuse tulemused paremad kui 4G7 IgG1 ja rituksimaabil.

Näide 10. 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidi S239D/I332E seondumine 293T rakkudega

Inimese CD19 kloon telliti ettevõttest Origene (kataloogi nr SC127938) ning transfekteeriti 293T rakkudesse. Rakud suspendeeriti PBS-is ja kanti plaadile tihedusega 100 000 rakku/reservuaari kohta. Rakkudele lisati 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidi S239D/I332E seeriaviisiline lahendus ning rakke inkubeeriti seejärel 30 minutit jääs ja pesti järgnevalt 4 korda PBS-is. Anti-Fab märgistatud F(ab')₂ lahjendati PBS-is suhtes 1/50 ning saadud lahust kasutati seejärel 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidi S239D/I332E anti-CD19 kaetud 293T rakkude uuesti suspendeerimiseks. Rakke inkubeeriti 30 minutit ja pesti kaks korda. Rakud fikseeriti seejärel ja sidumist hinnati FACS Canto II voolutsütomeetriga. Joonisel Fig 24 on kujutatud selle analüüsi tulemusi. Tulemused näitavad, et 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriid S239D/I332E seob CD19 transfekteeritud 293T rakke ja ei seondu kontrollrakkudega (tervete 293T rakkudega).

Näide 11. 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriid S239D/I332E on ristreaktiivne makaagi *Macaca fascicularis* ja reesusahvide CD19-ga

Ravimite eelkliiniline analüüsimine ahvidel on tavaliselt ravimi väljatöötamise oluliseks etapiks, mis võimaldab hinnata potentsiaalset toksilisust. Hangiti viie makaagi (*Macaca fascicularis*; perekond = *Macaco*; liik = *fascicularis*) ja viie reesusahvi (*Macaca mulatta*) vereproovid. 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega

hübriidi S239D/I332E anti-CD19, anti-CD19 IgG1 (vähenenud immunogeensuse, kuid ilma parema afiinsuse/stabiilsusega varieeruva piirkonnata), rituksimaab (anti-CD20) ja negatiivne kontroll (täiustatud Fc, mittesiduv varieeruv piirkond) märgistati otse FITC-iga. Rituksimaab märgistati rakkude B-raku fraktsiooni määramiseks samuti APC-ga. Kogu katses kasutati positiivsete kontrollvariantidena inimese PBMC-sid. Vereproove ja PBMC-sid eelinkubeeriti 2 mg/ml võimendatud Fc isotüübi kontrollantikehaga, et blokeerida kogu võimalik FcγR sidumine. Igas katses kaasati analüüsi rituksimaab-APC ja üks analüüsitavatest variantidest. Tuvastamine sooritati FACS Canto II volutsõtomeetriga, mille lümfotsüüdi fraktsioonide lävendväärtused põhinesid eesmisel ja külgmisel hajumisel. Tulemused on avaldatud joonisel Fig 25. Mitteafiinne/küpse stabiilsusega anti-CD19 ja selle eellasest hiire antikeha ei ole makaagi või reesusahvi CD19-ga ristreaktiivne. Samas anti-CD19 molekuli sidumist ja stabiilsust parandavad variandid võimaldasid 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriidi S239D/I332E ristreaktiivsust nii makaagi kui ka reesusahvi CD19.

Näide 12. Parema efektorfunktsiooni ja vähenenud fukoosi sisaldusega anti-CD19 antikeha ADCC

Parema efektorfunktsiooniga anti-CD19 antikehasid (4G7 H1L1 hübriid S239D/I332E) hinnati vähenenud fukoosisisalduse alusel. Vähenenud fukoosi sisaldusega anti-CD19 antikehade avaldamiseks kasutati Lec13 rakuliini (Ripka *et al.* Arch. Biochem. Biophys. 49:533-545 (1986)). Lec13 tähistab lektiini resistentset hiina hamstri munasarja (CHO) muteerunud rakuliini, mis avaldab defektiga fukoosi metabolismi ja omab seega vähenenud võimet fukoosi lisamiseks keerulistele süsivesikutele. Seda rakuliini on kirjeldanud Ripka & Stanley, 1986, Somatic Cell & Molec. Gen. 12(1):51-62; ja Ripka *et al.*, 1986, Arch. Biochem. Biophys. 249(2):533-545. Arvatakse, et Lec13 rakkudel puudub transkript GDP-mannoos-4,6-dehüdrataasiks, mis on fukoosi metabolismi võtmetähtsusega ensüümiks. Ohyama *et al.*, 1988, J. Biol. Chem. 273(23): 14582-14587. GDP-D-mannoos-4,6-dehüdrataas loob GDP mannoosist GDP-mannoos-4-keto-6-D-deoksümannoosi, mis muudetakse seejärel FX valgu poolt GDP-L-fukoosiks. Fukosüülitud oligosahhariidide ekspressioon sõltub GDP-L-fukoosi

doonorsubstraatidest ja fukosüültransferaasidest. Lec13 CHO rakuliinil puudub võime fukoosi lisada, kuid see annab IgG-le oligosahhariidi, mis sarnaneb tavapärares CHO rakuliinides ja inimseerumis leiduvaga (Jefferis, R. *et al.*, 1990, Biochem. J. 268, 529-537; Raju, S. *et al.*, 2000, Glycobiology 10, 477-486; 5 Routier, F. H., *et al.*, 1997, Glycoconj. J. 14, 201-207). Tavapärased CHO ja HEK293 rakud lisavad IgG oligosahhariidile suurel hulgal fukoosi (tavaliselt 80-98%) ja seerumi IgG-d on samuti väga fukosüülitud (Jefferis, R. *et al.*, 1990, Biochem J. 268, 529-537; Raju, S. *et al.*, 2000, Glycobiology 10, 477-486; Routier, F. H., *et al.*, 1997, Glycoconj. J. 14, 201-207; Shields *et al.*, 2002, J. Biol. Chem. 10 277(90): 26733-26740). On kindlaks tehtud, et transfekteeritud Lec13 rakkudes avaldatud antikehad toodavad pidevalt umbes 10% ulatuses fukosüülitud süsivesikut (Shields *et al.*, 2002, J Biol Chem 277(90): 26733-26740).

ADCC analüüsid sooritati RS4;11 ja MEC-1 rakkudel, kasutades anti-CD19 antikehasid koos ja ilma parema efektorfunktsiooniga variantideta ning koos ja 15 ilma vähenenud fukosülatsioonita. Joonisel Fig 26 on kujutatud nende ADCC analüüside tulemusi. Aminohappe modifikatsioonidega anti-CD19 antikeha (4G7_H1L1_hübriid_239D/1332E + fukoos) ja vähenenud fukoosi sisaldusega anti-CD19 IgG1 antikeha (4G7_H1L1_IgG1_WTfukoos) ADCC potentsiaal ja efektiivsus olid sarnased. ADCC potentsiaali suurendati täiendavalt, liites 20 aminohappe modifikatsiooni vähenenud fukoosi sisaldusega (4G7_H1L1_hübriid_239D/332E-fukoos). (Joonis Fig 26). See katse näitab seega, et aminohappe modifikatsioonide ja modifitseeritud glükovormide kombinatsioone saab kasutada anti-CD19 antikehade efektorfunktsiooni omaduste optimeerimiseks.

25 Lec13 rakuliini kasutamine ei ole mõeldud piirama käesoleva leiutise kasutamiselatust selle konkreetse fukoosisisalduse vähendamismeetodini. Praktikas on teada mitmeid täiendavaid meetodeid fukosüülitud ja/või lõhestatud oligosahhariidide, mis on Fc piirkonnaga kovalentselt kinnitatud, taseme kontrollimiseks, näiteks ekspressioon erinevates organismides või rakuliinides, mis 30 on geneetiliselt või muul moel muudetud (näiteks Lec CHO rakud või roti hübridoomi YB2/0 rakud); glükosüülimisrajas osalevate ensüümide reguleerimine (näiteks FUT8 [α 1,6-fukosüültransferaas] ja/või β 1-4-N-

atsetüülglükoosaminüültransferaas III [Gn'TIII]); ning modifitseerivate süsivesikute modifitseerimine pärast IgG avaldamist (Umaña *et al.*, 1999, Nat. Biotechnol. 17: 176-180; Davies *et al.*, 2001, Biotechnol. Bioeng 74: 288-294; Shields *et al.*, 2002, J. Biol. Chem. 277: 26733-26740; Shinkawa *et al.*, 2003, J. Biol. Chem. 278: 3466-3473; Yamane-Ohnuki *et al.*, 2004, Biotechnology and Bioengineering 87(5): 614-621); (USA patent nr 6 602 684; USA patent nr 2003/0157108; USA patent nr 2003/0003097; PCT WO 00/61739A1; PCT WO 01/29246A1; PCT WO 02/31140A1; ja PCT WO 02/30954A1).

Konkreetsete modifikatsioonide kasutamine efektorfunktsiooni parandamiseks, näiteks asendused 239D ja 332E ning vähenenud fukoositase, ei ole mõeldud anti-CD19 antikehasid nende konkreetsete modifikatsioonideni piirama. Nagu on kirjeldatud eelpool peatükis „Modifikatsioonid efektorfunktsiooni optimeerimiseks“, võib anti-CD19 antikehade efektorfunktsiooni omaduste parandamiseks kasutada suurel hulgal erinevaid modifikatsioone, k.a aminohappe modifikatsioone ja modifitseeritud glükovorme.

Näide 13. Anti-CD19 antikehad inhibeerivad primaarsete B rakkude proliferatsiooni – anti-CD19 antikehade kasutamine autoimmuunsete haiguste ravimiseks

Käesoleva leiutise anti-CD19 antikehade võimet B rakke läbi ADCC efektorfunktsiooni neutraliseerida on näitlikustatud läbi nende võime erinevaid B-raku liine lahustada - seda on demonstreeritud eelnevate näidetega. Seda funktsiooni vahendatakse efektorrakkude nagu NK rakkude ja makrofaagidega, mis avaldavad FcγR-e, mille aktiveerimine põhjustab CD19-kaetud märklaudrakkude lahustumise. Täiendavat toimemehhanismi võib vahendada ka antigeeni aktiveerivate B-rakkude vastu. B-rakkude antigeeni aktiveerimist saab jäljendada läbi antikehade kasutamise B-raku retseptoril (BCR). See põhjustab nende proliferatsiooni kultuuris, mis on tavapäraseks aktiveerimismeetodiks.

Antigeeni sidumist saab jäljendada *in vitro* läbi BCR-i (müü või IgM) ristsidumise anti-müü (anti-4, anti-IgM) antikehaga. Selle aktiivsuse demonstreerimiseks valmistati leukoforesi pakist Ficolli tihedusgradienti kasutades perifeerse vere mononukleaarsed rakud (PBMC) ja primaarsed inimese B rakud puhastati PBMC-dest magnetilise negatiivse selektsioonikomplektiga (Miltenyi Biotec).

Proliferatsiooni analüüs sooritati 10% FBS-i/RPMI 1640 segus 100 ul koguses kolmes korduses 96 reservuaariga mikrotiitrimisplaatidel. B-raku aktiveerimine indutseeriti kitse anti-müü antikeha F(ab')₂ fragmenti kasutades (Jackson Immunoresearch, Inc.). 50 ul söötmes alikvooditi anti-müü antikeha seeriaviisilised lahjendused 96 reservuaariga mikrotiitrimisplaadil, millele lisati 50 ul koguses 83 000 puhastatud B raku. Mikrotiitrimisplaati inkubeeriti 3 päeva temperatuuril 37 °C ja seejärel kasutati elavate rakkude leidmiseks luminomeetriga ATP-luminestsentsi analüüsivormi (ettevõtte Promega komplekt Cell TiterGlo). Joonisel Fig 30a on kujutatud B-rakkude proliferatsiooni sõltuvust doosi suurusest anti-müü antikeha kontsentratsioonil.

WT (4G7_H3_L1 IgG1_WT) ja variandist (4G7_H3_L1_hübriid_239D/332E) anti-CD19 antikehade võime hindamiseks B-rakkude proliferatsiooni moduleerida sooritati analüüs primaarsete inimese B-rakkude elujõu jälgimiseks anti-CD19 ja kaasstimuleeriva anti-müü antikeha juuresolekul. PBMC-d valmistati sarnaselt eelpool kirjeldatule leukoforeesi pakist Ficoli tihedusgradiendiga ning primaarsed inimese B-rakud puhastati PBMC-dest magnetilise negatiivse selektsiooniga. Proliferatsiooni analüüs sooritati 10% FBS-i/RPMI 1640 segus 100 ul koguses kolmes korduses 96 reservuaariga mikrotiitrimisplaatidel. B-raku aktiveerimise indutseerimiseks kasutati kitse anti-müü antikeha F(ab')₂ fragmenti. 50 ul söötmes olev fikseeritud (2 mg/ml) anti-müü kontsentratsioon koos viiekordse antikeha seeriaviisilise lahjendusega viidi 96 reservuaariga mikrotiitrimisplaadile ja seejärel lisati 100 000 puhastatud B raku (50 ul). Mikrotiitrimisplaati inkubeeriti 3 päeva temperatuuril 37 °C ja seejärel kasutati elavate rakkude leidmiseks luminomeetriga ATP-luminestsentsi analüüsivormi.

Joonisel Fig 30B avaldatud tulemused näitavad, et MT anti-CD19 antikehal puudub mõju primaarse B-raku proliferatsioonile ja see on sarnane negatiivse kontrollvariandi tulemusele anti-CD30 antikehaga (CD30 ei avaldata B-rakkudel). Samas Fc modifikatsioone sisaldaval anti-CD19 antikehal on märkimisväärne inhibeeriv aktiivsus B-raku elujõu vastu. Väärrib äramärkimist, et anti-müü antikeha ristsidumise tulemuseks olev *in vitro* signalisatsioon jäljendab BCR-i antigeeni blokeerimist ja on kliinilise autoimmuunsuse kontekstis autoantigeeni põhjustatud BCR blokeerimise puhvriks.

Enamuste autoimmuunsete haiguste patogenees on seotud auto-antikehade tootmisega omaste antigeenide vastu, mis põhjustab erinevaid seonduvaid patoloogiad. Näiteks SLE-d iseloomustab auto- või iseantikehade tootmine kaheaheelalisele DNA-le. Seega jälgendab BCR blokeerimine *in vitro* anti-müü

5 antikeha poolt eelnevas analüüsis B-rakkude stimuleerimist luupusega patsientidel *in vivo* anti-kaheaheelalise DNA antikehade poolt. Auto-antikehasid toodetakse terminaalset diferentseerunud plasmarakkude poolt, mis on deriveeritud naiivsetest või mälu B-rakkudest. B-rakkudel võib olla autoimmuunsuse patoloogiale lisaks ka muid toimeid, näiteks antigeeni esitavate rakkudena (APC-

10 dena), mis reageerivad ja stimuleerivad abistajatest T-rakke, stimuleerides seeläbi täiendavalt omase immuunvastuse vastast tsükli. Arvestades CD19 ekspressiooni enamustel B-raku liinidel, mis ulatuvad pre-B-rakkudest plasmarakkudeni, võivad käesoleva leiutise antikehad omada autoimmuunsete haiguste ravimises laia kasutusotstarvet. Selliste autoimmuunsete haiguste näideteks on reumatoidartriit

15 (RA), süsteemne erütematoosartriit (SLE või luupus), sclerosis multiplex, Sjorgeni sündroom ja idiopaatiline trombotsütopeeniline purpur (ITP).

Käesoleva näitega demonstreeritakse, et käesoleva leiutise anti-CD19 antikehad suudavad inhibeerida B-raku proliferatsiooni põhimõtteliselt doosi suuruselt sõltuval moel, näidates, et need rakud suudavad inhibeerida B-rakkude antigeeni

20 stimuleeritud aktiveerimist. B-raku aktiveerimine antigeeni poolt võib käivitada ka klasside vahetamise protsessi ja lõpuks otsmise diferentseerumise antikeha eritavateks plasmarakkudeks. Käesoleva leiutise antikehad on seega võimelised inhibeerima neid protsesse läbi täiendava toimemehhanismi, mis ei vaja efektorrakkude osalemist. Eeldatakse, et sellisel inhibeerimisel on kasulik toime

25 autoimmuunse haiguse ravimiseks läbi naiivsete ja mälu B-rakkude populatsioonide otsmise diferentseerumise takistamise, vältides seeläbi auto-antikeha eritavate plasmarakkude diferentseerimist. Samuti on võimalik, et anti-CD19 antikehad mõjutavad täiendavad B-raku bioloogia aspekte nagu antigeeni esitamist.

> **IgG1 G1m(a,z)** allotüüp (SEQ ID NO:80)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYV
LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> **IgG1 G1m(a,x,z)** allotüüp (SEQ ID NO:81)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYV
LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEGLHNHYTQKSLSLSPGK

> **IgG1 G1m(f)** allotüüp (SEQ ID NO:82)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAP
ELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYV
LPPSRDEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> **IgG1 G1m(a,f)** allotüüp (SEQ ID NO:83)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAP
ELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYV
LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> IgG2 G2m(n+) allotüüp (SEQ ID NO:84)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
 LQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
 NSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRE
 EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS
 RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> IgG2 G2m(n-) allotüüp (SEQ ID NO:85)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
 LQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGMEVHNAKTKPREEQF
 NSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRE
 EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS
 RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

> 4G7 H1 hübriid S239D/I332E (SEQ ID NO:86)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFSTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY
 NDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTA YMELSSLRSED TAMYYCARGTYYYGSRVFDYWG
 QGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
 TFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPP
 CPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREP
 QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFF
 LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> 4G7 H1.52 hübriid S239D/I332E (SEQ ID NO:87)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFSTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY
 NDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTA YMELSSLRSED TAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG
 QGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
 TFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPP
 CPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREP
 QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFF
 LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> 4G7 H1.78 hübrid S239D/I332E (SEQ ID NO:88)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY
NAGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGSRVFDYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKTKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> 4G7 H1.191 hübrid S239D/I332E (SEQ ID NO:89)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY
NDGTEYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKTKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> 4G7 H1.192 hübrid S239D/I332E (SEQ ID NO:90)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY
NDGPKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKTKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> 4G7 H1.196 hübrid S239D/I332E (SEQ ID NO:91)

EVQLVESGGGLVHPGGSGLKLSCAASGYTFSTSYVMHWVRQAPGKGLLEWIGYINPY
NDGPKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTSVFDYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> 4G7 H1.201 hübrid S239D/I332E (SEQ ID NO:92)

EVQLVESGGGLVHPGGSGLKLSCAASGYTFSTSYVMHWVRQAPGKGLLEWIGYINPY
NSGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> 4G7 H1.202 hübrid S239D/I332E (SEQ ID NO:93)

EVQLVESGGGLVHPGGSGLKLSCAASGYTFSTSYVMHWVRQAPGKGLLEWIGYINPY
NEGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> 4G7 H1.203 hübrid | S239D/I332E (SEQ ID NO:94)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY
 NSGTEYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQ
 GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
 FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
 PAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK
 TKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQ
 VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFL
 YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

> 4G7 H1.204 hübrid | S239D/I332E (SEQ ID NO:95)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY
 NEGTEYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG
 QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
 TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
 CPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREP
 QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFF
 LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

> 4G7 L1 (SEQ ID NO:96)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNSNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRM
 SNLASGV PDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIKRTVAA
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
 TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7 L1.26 (SEQ ID NO:97)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNSNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYR
 MSNLASGV PDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIKRTV
 AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
 DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7 L1.32 (SEQ ID NO:98)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYR
 MSNLASGVDPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIKRTV
 AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
 DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7 L1.64 (SEQ ID NO:99)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRM
 SNLASGVDPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAA
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
 TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7 L1.68 (SEQ ID NO:100)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRM
 SNLASGVDPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPNTFGAGTKLEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
 STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7.L1.96 (SEQ ID NO:101)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRM
 SNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIKRTVAA
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
 TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7 L1.145 (SEQ ID NO:102)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNSNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYR
 MSNLASGVDPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
 STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7 L1.148 (SEQ ID NO:103)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNSNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYR
 MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPNTFGAGTKLEIKRTV
 AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
 DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7 L1.149 (SEQ ID NO:104)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7 L1.154 (SEQ ID NO:105)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPNTFGAGTKLEIKRTV
AAPS FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7 L1.155 (SEQ ID NO:106)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7 L1.160 (SEQ ID NO:107)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNANTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7 L1.162 (SEQ ID NO:108)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNaNANTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7 L1.163 (SEQ ID NO:109)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNANSNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7 L1.164 (SEQ ID NO:110)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNANGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

> 4G7 VH CDR2 D55A (SEQ ID NO:111)

YINPYNAGTKYNEKFKG

> 4G7 VH CDR2 T57P (SEQ ID NO:112)

YINPYNDGPKYNEKFKG

> 4G7 VH CDR2 K58E (SEQ ID NO:113)

YINPYNDGTEYNEKFKG

> 4G7 VH CDR2 D55S (SEQ ID NO:114)

YINPYNSGTKYNEKFKG

> 4G7 VH CDR2 D55E (SEQ ID NO:115)

YINPYNEGTKYNEKFKG

> 4G7 VH CDR3 S100T (SEQ ID NO:116)

GTYYYGTRVFDY

> 4G7 VH CDR13 R100ds (SEQ ID NO:117)

GTYYYGSSVFDY

> 4G7 VH CDR3 S100cT/R100ds (SEQ ID NO:118)

GTYYYGTSVFDY

> 4G7 VL CDR1 L27cQ (SEQ ID NO:119)

RSSKSLQNSNGNTYLY

> 4G7 VL CDR1 L27cQ/S27eV (SEQ ID NO:120)

RSSKSLQNVNGNTYLY

> 4G7 VL CDR1 S27cV (SEQ ID NO:121)

RSSKSLQNVNGNTYLY

> 4G7 VL CDR1G29A (SEQ ID NO: 122)

RSSKSLQNSNANTYLY

> 4G7 VL CDR1 L27cQ/S27eV/G29A (SEQ ID NO:123)

RSSKSLQNVNANTYLY

> 4G7 VL CDR1 S27eA (SEQ ID NO:124)
RSSKSLLNANGNTYLY

> 4G7 VL CDR1 L27cQ/S27eA/G29A (SEQ ID NO:125)
RSSKSLQANANTYLY

> 4G7 VL CDR1 G29S (SEQ ID NO:126)
RSSKSLNNSNTYLY

> 4G7 VL CDR1 L27cQ/S27eA/G29S(SEQ ID NO:127)
RSSKSLQANSNTYLY

> 4G7 VL CDR1 L27cQ/S27eA (SEQ ID NO:128)
RSSKSLQANANGNTYLY

> 4G7 VL CDR2 A55N (SEQ ID NO:129)
RMSNLNS

> 4G7 VL CDR3 F96I (SEQ ID NO:130)
MQHLEYPIT

> 4G7 VL CDR3 F96N (SEQ ID NO:131)
MQHLEYPNT

> 4G7 VH CDR1 (SEQ ID NO:132): SYVMH

> 4G7 VH CDR2 (SEQ ID NO:133): YINPYNDGTYNEKFKG

> 4G7 VH CDR3 (SEQ ID NO:134): GTYYYGSRVFDY

> 4G7 VL CDR1 (SEQ ID NO:135): RSSKSLNNSNGNTYLY

> 4G7 VL CDR2 (SEQ ID NO:136): RMSNLAS

> 4G7 VL CDR3 (SEQ ID NO:137): MQHLEYPFT

> HD37 VH CDR1 (SEQ ID NO:138): SYWMN

> HD37 VH CDR2 (SEQ ID NO:139): QIWPGDGDNTYNGKFKG

> HD37 VH CDR3 (SEQ ID NO:140): RETTTVGRYYYAMDY

> HD37 VL CDR1 (SEQ ID NO:141): KASQSVDYDGD SYLN

> HD37 VL CDR2 (SEQ ID NO:142): DASNLVS

> HD37 VL CDR3 (SEQ ID NO:143): QQSTEDPWT

Käesolev leiutis seondub lisaks järgnevaga:

1. Antikeha, mis seob CD19 ja nimetatud antikeha koosneb raskest ahelast ja/või
5 kerges ahelast ja nimetatud raskel ahelal on CDR1, mis sisaldab aminohappejärjestust rühmast SEQ ID NO: 132 ja 138, CDR2, mis sisaldab aminohappejärjestust rühmast SEQ ID NO: 111 kuni 115 ja CDR3, mis sisaldab aminohappejärjestust rühmast SEQ ID NO: 116-118; ja nimetatud kergel ahelal on

CDR1, mis sisaldab aminohappejärjestust rühmast SEQ ID NO: 119-128, CDR2 aminohappejärjestusega SEQ ID NO: 129 ja CDR3 aminohappejärjestusega rühmast SEQ ID NO: 130-131.

2. Antikeha vastavalt punktile 1, mis erineb selle poolest, et nimetatud antikeha
5 sisaldab varieeruva piirkonna raske ahela järjestust, mis on valitud rühmast, kuhu kuuluvad SEQ ID NO: 13-16, 20-23 ja 27-44 ja/või varieeruva piirkonna kerge ahela järjestust, mis on valitud rühmast, kuhu kuuluvad SEQ ID NO: 17-19, 24-26 ja 45-79.

3. Antikeha vastavalt punktile 2, mis erineb selle poolest, et nimetatud antikeha
10 sisaldab varieeruva piirkonna raske ahela järjestust, mis on valitud rühmast, kuhu kuuluvad SEQ ID NO: 86-95 ja/või varieeruva piirkonna kerge ahela järjestust, mis on valitud rühmast, kuhu kuuluvad SEQ ID NO: 96-110.

4. Antikeha vastavalt punktile 1, mis erineb selle poolest, et nimetatud antikeha
15 seondub lähteantikehast parema afiinsusega FcγRIIIa retseptoriga või omab paremat ADCC efektorfunktsiooni.

5. Antikeha vastavalt punktile 4, mis erineb selle poolest, et nimetatud modifikatsiooniks on aminohape.

6. Antikeha vastavalt punktile 5, mis erineb selle poolest, et nimetatud aminohappe modifikatsioon asub positsioonil 221, 222, 223, 224, 225, 227, 228,
20 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 249, 255, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 278; 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 288, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 313, 317, 318, 320, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336 või
25 337, kus nummerdus vastab EU indeksile.

7. Antikeha vastavalt punktile 5, kus nimetatud aminohappe modifikatsiooniks on asendus, mis on valitud järgnevate asenduste hulgast: 221K, 221Y, 222E, 222Y, 223E, 223K, 224E, 224Y, 225E, 225K, 225W, 227E, 227G, 227K, 227Y, 228E, 228G, 228K, 228Y, 230A, 230E, 230G, 230Y, 231E, 231G, 231K, 231P, 231Y,
30 232E, 232G, 232K, 232Y, 233A, 233D, 233F, 233G, 233H, 233I, 233K, 233L,

233M, 233N, 233Q, 233R, 233S, 233T, 233V, 233W, 233Y, 234A, 234D, 234E,
234F, 234G, 234H, 234I, 234K, 234M, 234N, 234P, 234Q, 234R, 234S, 234T,
234V, 234W, 234Y, 235A, 235D, 235E, 235F, 235G, 235H, 235L, 235K, 235M,
235N, 235P, 235Q, 235R, 235S, 235T, 235V, 235W, 235Y, 236A, 236D, 236E,
5 236F, 236H, 236I, 236K, 236L, 236M, 236N, 236P, 236Q, 236R, 236S, 236T,
236V, 236W, 236Y, 237D, 237E, 237F, 237H, 237I, 237K, 237L, 237M, 237N,
237P, 237Q, 237R, 237S, 237T, 237V, 237W, 237Y, 238D, 238E, 238F, 238G,
238H, 238I, 238K, 238L, 238M, 238N, 238Q, 238R, 238S, 238T, 238V, 238W,
238Y, 239D, 239E, 239F, 239G, 239H, 239I, 239K, 239L, 239M, 239N, 239P,
10 239Q, 239R, 239T, 239V, 239W, 239Y, 240A, 240I, 240M, 240T, 241D, 241E,
241L, 241R, 241S, 241W, 241Y, 243E, 243H, 243L, 243Q, 243R, 243W, 243Y,
244H, 245A, 246D, 246E, 246H, 246Y, 247G, 247V, 249H, 249Q, 249Y, 255E,
255Y, 258H, 258S, 258Y, 260D, 260E, 260H, 260Y, 262A, 262E, 262F, 262I,
262T, 263A, 263I, 263M, 263T, 264A, 264D, 264E, 264F, 264G, 264H, 264I,
15 264K, 264L, 264M, 264N, 264P, 264Q, 264R, 264S, 264T, 264W, 264Y, 265F,
265G, 265H, 265I, 265K, 265L, 265M, 265N, 265P, 265Q, 265R, 265S, 265T,
265V, 265W, 265Y, 266A, 266I, 266M, 266T, 267D, 267E, 267F, 267H, 267I,
267K, 267L, 267M, 267N, 267P, 267Q, 267R, 267T, 267V, 267W, 267Y, 268D,
268E, 268F, 268G, 268I, 268K, 268L, 268M, 268P, 268Q, 268R, 268T, 268V,
20 268W, 269F, 269G, 269H, 269I, 269K, 269L, 269M, 269N, 269P, 269R, 269S,
269T, 269V, 269W, 269Y, 270F, 270G, 270H, 270I, 270L, 270M, 270P, 270Q,
270R, 270S, 270T, 270W, 270Y, 271A, 271D, 271E, 271F, 271G, 271H, 271I,
271K, 271L, 271M, 271N, 271Q, 271R, 271S, 271T, 271V, 271W, 271Y, 272D,
272F, 272G, 272H, 272I, 272K, 272L, 272M, 272P, 272R, 272S, 272T, 272V,
25 272W, 272Y, 273I, 274D, 274E, 274F, 274G, 274H, 274I, 274L, 274M, 274N,
274P, 274R, 274T, 274V, 274W, 274Y, 275L, 275W, 276D, 276E, 276F, 276G,
276H, 276I, 276L, 276M, 276P, 276R, 276S, 276T, 276V, 276W, 276Y, 278D,
278E, 278G, 278H, 278I, 278K, 278L, 278M, 278N, 278P, 278Q, 278R, 278S,
278T, 278V, 278W, 280G, 280K, 280L, 280P, 280W, 281D, 281 E, 281K, 281N,
30 281P, 281Q, 281 Y, 282E, 282G, 282K, 282P, 282Y, 283G, 283H, 283K, 283L,
283P, 283R, 283Y, 284D, 284E, 284L, 284N, 284Q, 284T, 284Y, 285D, 285E,
285K, 285Q, 285W, 285Y, 286E, 286G, 286P, 286Y, 288D, 288E, 288Y, 290D,
290H, 290L, 290N, 290W, 291D, 291E, 291G, 291H, 291I, 291Q, 291T, 292D,

292E, 292T, 292Y, 293F, 293G, 293H, 293I, 293L, 293M, 293N, 293P, 293R,
293S, 293T, 293V, 293W, 293Y, 294F, 294G, 294H, 294I, 294K, 294L, 294M,
294P, 294R, 294S, 294T, 294V, 294W, 294Y, 295D, 295E, 295F, 295G, 295H,
295I, 295M, 295N, 295P, 295R, 295S, 295T, 295V, 295W, 295Y, 296A, 296D,
5 296E, 296G, 296H, 296I, 296K, 296L, 296M, 296N, 296Q, 296R, 296S, 296T,
296V, 297D, 297E, 297F, 297G, 297H, 297I, 297K, 297L, 297M, 297P, 297Q,
297R, 297S, 297T, 297V, 297W, 297Y, 298A, 298D, 298E, 298F, 298H, 298I,
298K, 298M, 298N, 298Q, 298R, 298T, 298W, 298Y, 299A, 299D, 299E, 299F,
299G, 299H, 299I, 299K, 299L, 299M, 299N, 299P, 299Q, 299R, 299S, 299V,
10 299W, 299Y, 300A, 300D, 300E, 300G, 300H, 300K, 300M, 300N, 300P, 300Q,
300R, 300S, 300T, 300V, 300W, 301D, 301E, 301H, 301Y, 302I, 303D, 303E,
303Y, 304D, 304H, 304L, 304N, 304T, 305E, 305T, 305Y, 313F, 317E, 317Q,
318H, 318L, 318Q, 318R, 318Y, 320D, 320F, 320G, 320H, 320I, 320L, 320N,
320P, 320S, 320T, 320V, 320W, 320Y, 322D, 322F, 322G, 322H, 322I, 322P,
15 322S, 322T, 322V, 322W, 322Y, 323I, 324D, 324F, 324G, 324H, 324I, 324L,
324M, 324P, 324R, 324T, 324V, 324W, 324Y, 325A, 325D, 325E, 325F, 325G,
325H, 325I, 325K, 325L, 325M, 325P, 325Q, 325R, 325S, 325T, 325V, 325W,
325Y, 326E, 326I, 326L, 326P, 326T, 327D, 327E, 327F, 327H, 327I, 327K, 327L,
327M, 327N, 327P, 327R, 327S, 327T, 327V, 327W, 327Y, 328A, 328D, 328E,
20 328F, 328G, 328H, 328I, 328K, 328M, 328N, 328P, 328Q, 328R, 328S, 328T,
328V, 328W, 328Y, 329D, 329E, 329F, 329G, 329H, 329I, 329K, 329L, 329M,
329N, 329Q, 329R, 329S, 329T, 329V, 329W, 329Y, 330E, 330F, 330G, 330H,
330I, 330L, 330M, 330N, 330P, 330R, 330S, 330T, 330V, 330W, 330Y, 331D,
331F, 331H, 331I, 331L, 331M, 331Q, 331R, 331T, 331V, 331W, 331Y, 332A,
25 332D, 332E, 332F, 332H, 332K, 332L, 332M, 332N, 332P, 332Q, 332R, 332S,
332T, 332V, 332W, 332Y, 333A, 333F, 333H, 333I, 333L, 333M, 333P, 333T,
333Y, 334A, 334F, 334I, 334L, 334P, 334T, 335D, 335F, 335G, 335H, 335I,
335L, 335M, 335N, 335P, 335R, 335S, 335V, 335W, 335Y, 336E, 336K, 336Y,
337E, 337H ja 337N, kus nummerdus vastab EU indeksile.

30 8. Antikeha vastavalt punktile 5, mis erineb selle poolest, et nimetatud
aminohappe modifikatsioon asub positsioonil 221, 222, 223, 224, 225, 227, 228,
230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 245, 246, 247,
249, 255, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 274,

275, 276, 278, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 288, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 313, 317, 318, 320, 322, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336 või 337.

9. Antikeha vastavalt punktile 5, mis erineb selle poolest, et nimetatud
5 aminohappe modifikatsiooniks on asendus, mis on valitud järgnevast rühmast:
221K, 222Y, 223E, 223K, 224E, 224Y, 225E, 225W, 227E, 227G, 227K, 227Y,
228E, 228G, 228K, 228Y, 230A, 230E, 230G, 230Y, 231E, 231G, 231K, 231P,
231Y, 232E, 232G, 232K, 232Y, 233A, 233F, 233H, 233I, 233K, 233L, 233M,
233N, 233Q, 233R, 233S, 233T, 233V, 233W, 233Y, 234D, 234E, 234F, 234G,
10 234H, 234I, 234K, 234M, 234N, 234P, 234Q, 234R, 234S, 234T, 234W, 234Y,
235D, 235F, 235G, 235H, 235I, 235K, 235M, 235N, 235Q, 235R, 235S, 235T,
235V, 235W, 235Y, 236D, 236F, 236F, 236H, 236I, 236K, 236L, 236M, 236N,
236P, 236Q, 236R, 236S, 236T, 236V, 236W, 236Y, 237D, 237E, 237F, 237H,
237I, 237K, 237L, 237M, 237N, 237P, 237Q, 237R, 237S, 237T, 237V, 237W,
15 237Y, 238D, 238E, 238F, 238G, 238H, 238I, 238K, 238L, 238M, 238N, 238Q,
238R, 238S, 238T, 238V, 238W, 238Y, 239D, 239E, 239F, 239G, 239H, 239I,
239K, 239L, 239M, 239N, 239P, 239Q, 239R, 239T, 239V, 239W, 239Y, 240M,
240T, 241D, 241E, 241R, 241S, 241W, 241Y, 243E, 243H, 243Q, 243R, 243W,
243Y, 245A, 246D, 246H, 245Y, 247G, 247V, 249H, 249Q, 249Y, 255E, 255Y,
20 258H, 258S, 258Y, 260D, 260E, 260H, 260Y, 262A, 262E, 262F, 262I, 262T,
263A, 263I, 263M, 263T, 264D, 264E, 264F, 264G, 264H, 264I, 264K, 264L,
264M, 264N, 264P, 264Q, 264R, 264S, 264T, 264W, 264Y, 265F, 265G, 265H,
265I, 265K, 265L, 265M, 265P, 265Q, 265R, 265S, 265T, 265V, 265W, 265Y,
266A, 266I, 266M, 266T, 267D, 267E, 267F, 267H, 267I, 267K, 267L, 267M,
25 267N, 267P, 267Q, 267R, 267V, 267W, 267Y, 268F, 268G, 268I, 268M, 268P,
268T, 268V, 268W, 269F, 269G, 269H, 269I, 269L, 269M, 269N, 269P, 269R,
269S, 269T, 269V, 269W, 269Y, 270F, 270G, 270H, 270I, 270L, 270M, 270P,
270Q, 270R, 270S, 270T, 270W, 270Y, 271A, 271D, 271E, 271F, 271G, 271H,
271I, 271K, 271L, 271M, 271N, 271Q, 271R, 271 S, 277T, 271V, 271W, 271Y,
30 272F, 272G, 272H, 272I, 272K, 272L, 272M, 272P, 272R, 272S, 272T, 272V,
272W, 272Y, 274D, 274E, 274F, 274G, 274H, 274I, 274L, 274M, 274P, 274R,
274T, 274V, 274W, 274Y, 275W, 276D, 276E, 276F, 276G, 276H, 276I, 276L,
276M, 276P, 276R, 276S, 276T, 276V, 276W, 278D, 278E, 278G, 278H, 278I,

278K, 278L, 278M, 278N, 278P, 278Q, 278R, 278S, 278T, 278V, 278W, 280G,
280P, 280W, 281E, 281K, 281N, 281P, 281Y, 282G, 282P, 282Y, 283G, 283H,
283K, 283L, 283P, 283R, 283Y, 284L, 284N, 284Q, 284T, 284Y, 285K, 285Q,
285W, 285Y, 286G, 286P, 286Y, 288Y, 290H, 290L, 290W, 291D, 291E, 291G,
5 291H, 291T, 291Q, 291T, 292D, 292E, 292T, 292Y, 293F, 293G, 293H, 293I,
293L, 293M, 293N, 293P, 293R, 293S, 293T, 293W, 293Y, 294F, 294G, 294H,
294I, 294K, 294L, 294M, 294P, 294R, 294S, 294T, 294V, 294W, 294Y, 295D,
295F, 295G, 295H, 295I, 295M, 295N, 295P, 295R, 295S, 295T, 295V, 295W,
295Y, 296A, 296D, 296E, 296G, 296I, 296K, 296L, 296M, 296N, 296Q, 296R,
10 296S, 296T, 296V, 297D, 297E, 297F, 297G, 297H, 297I, 297K, 297L, 297M,
297P, 297R, 297S, 297T, 297V, 297W, 297Y, 298E, 298F, 298H, 298I, 298K,
298M, 298Q, 298R, 298W, 298Y, 299A, 299D, 299E, 299F, 299G, 299H, 299I,
299K, 299L, 299M, 299N, 299P, 299Q, 299R, 299S, 299V, 299W, 299Y, 300A,
300D, 300E, 300G, 300H, 300K, 300M, 300N, 300P, 300Q, 300R, 300S, 300T,
15 300V, 300W, 301D, 301E, 301Y, 302I, 303D, 303E, 303Y, 304H, 304L, 304N,
304T, 305E, 305T, 305Y, 313F, 317E, 317Q, 318H, 318L, 318Q, 318R, 318Y,
320D, 320F, 320G, 320H, 320I, 320L, 320N, 320P, 320S, 320T, 320V, 320W,
320Y, 322D, 322F, 322G, 322H, 322I, 322P, 322S, 322T, 322V, 322W, 322Y,
324D, 324F, 324G, 324H, 324I, 324L, 324M, 324P, 324R, 324T, 324V, 324W,
20 324Y, 325A, 325D, 325E, 325F, 325G, 325H, 325I, 325K, 325L, 325M, 325P,
325Q, 325R, 325S, 325T, 325V, 325W, 325Y, 326L, 326P, 326T, 327D, 327E,
327F, 327H, 327I, 327Y, 327L, 327M, 327P, 327R, 327V, 327W, 327Y, 328A,
328D, 328E, 328F, 328G, 328H, 328K, 328M, 328N, 328P, 328Q, 328R, 328S,
328T, 328V, 328W, 328Y, 329D, 329E, 329F, 329G, 329H, 329I, 329K, 329L,
25 329M, 329N, 329Q, 329R, 329S, 329T, 329V, 329W, 329Y, 330E, 330F, 330H,
330I, 330L, 330M, 330N, 330P, 330W, 330Y, 331D, 331F, 331H, 331I, 331L,
331M, 331Q, 331R, 331T, 331V, 331W, 331Y, 332A, 332F, 332H, 332L, 332M,
332N, 332P, 332Q, 332S, 332T, 332V, 332W, 332Y, 333F, 333H, 333I, 333L,
333M, 333P, 333T, 333Y, 334F, 334P, 334T, 335D, 335F, 335G, 335H, 335I,
30 335L, 335M, 335P, 335R, 335S, 335V, 335W, 335Y, 336E, 336K, 336Y, 337H ja
337N.

10. Antikeha vastavalt punktile 5, mis erineb selle poolest, et nimetatud modifikatsioon on sooritatud positsioonil 221, 222, 223, 224, 225, 228, 230, 231,

232, 240, 244, 245, 247, 262, 263, 266, 271, 273, 275, 281, 284, 291, 299, 302, 304, 313, 323, 325, 328, 332 või 336, kus positsiooni nummerdus vastab EU indeksile.

11. Antikeha vastavalt punktile 5, mis erineb selle poolest, et nimetatud
5 modifikatsioon on valitud rühmast, kuhu kuuluvad 221K, 221Y, 222E, 222Y, 223E,
223K, 224E, 224Y, 225E, 225K, 225W, 228E, 228G, 228K, 228Y, 230A, 230E,
230G, 230Y, 231E, 231G, 231K, 231P, 231Y, 232E, 232G, 232K, 232Y, 240A,
240I, 240M, 240T, 244H, 245A, 247G, 247V, 262A, 262E, 262F, 262I, 262T,
263A, 263I, 263M, 263T, 266A, 266I, 266M, 266T, 271A, 271D, 271E, 271F,
10 271G, 271H, 271I, 271K, 271L, 271M, 271N, 271Q, 271R, 271S, 271T, 271V,
271W, 271Y, 273I, 275L, 275W, 281D, 281E, 281K, 281N, 281P, 281Q, 281Y,
284D, 284E, 284L, 284N, 284Q, 284T, 284Y, 291D, 293E, 291G, 291H, 291I,
291Q, 291T, 299A, 299D, 299E, 299F, 299G, 299H, 299I, 299K, 299L, 299M,
299N, 299P, 299Q, 299R, 299S, 299V, 299W, 299Y, 304D, 304H, 304L, 304N,
15 304T, 313F, 323I, 325A, 325D, 325E, 325F, 325G, 325H, 325I, 325K, 325L,
325M, 325P, 325Q, 325R, 325S, 325T, 325V, 325W, 325Y, 328A, 328D, 328E,
328F, 328G, 328H, 328I, 328K, 328M, 328N, 328P, 328Q, 328R, 328S, 328T,
328V, 328W, 328Y, 332A, 332D, 332E, 332F, 332H, 332K, 332L, 332M, 332N,
332P, 332Q, 332R, 332S, 332T, 332V, 332W, 332Y, 336E, 336K ja 336Y.

20 12. Antikeha vastavalt punktile 10, mis sisaldab lisaks teist aminohappe
modifikatsiooni positsioonil 221, 222, 223, 224, 225, 227, 228, 230, 231, 232, 233,
234, 235, 236, 237; 238. 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 249, 255, 258,
260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269; 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276,
278, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 288, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296,
25 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 313, 317, 318, 320, 322, 323, 324,
325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336 või 337, kus
nummerdus vastab EU indeksile.

13. Antikeha vastavalt punktile 10, mis erineb selle poolest, et nimetatud teiseks
aminohappe modifikatsiooniks on asendus, mis on valitud rühmast: 221K, 221Y,
30 222E, 222Y, 223E, 223K, 224E, 224Y, 225E, 225K, 225W, 227E, 227G, 227K,
227Y, 228E, 228G, 228K, 228Y, 230A, 230E, 230G, 230Y, 231E, 231G, 231K,
231P, 231Y, 232E, 232G, 232K, 232Y, 233A, 233D, 233F, 233G, 233H, 233I,

233K, 233L, 233M, 233N, 233Q, 233R, 233S, 233T, 233V, 233W, 233Y, 234A,
234D, 234E, 234F, 234G, 234H, 234I, 234K, 234M, 234N, 234P, 234Q, 234R,
234S, 234T, 234V, 234W, 234Y, 235A, 235D, 235E, 235F, 235G, 235H, 235I,
235K, 235M, 235N, 235P, 235Q, 235R, 235S, 235T, 235V, 235W, 235Y, 236A,
5 236D, 236E, 236F, 236H, 236I, 236K, 236L, 236M, 236N, 236P, 236Q, 236R,
236S, 236T, 236V, 236W, 236Y, 237D, 237E, 237F, 237H, 237I, 237K, 237L,
237M, 237N, 237P, 237Q, 237R, 237S, 237T, 237V, 237W, 237Y, 238D, 238E,
238F, 238G, 238H, 238I, 238K, 238L, 238M, 238N, 238Q, 238R, 238S, 238T,
238V, 238W, 238Y, 239D, 239E, 239F, 239G, 239H, 239I, 239K, 239L, 239M,
10 239N, 239P, 239Q, 239R, 239T, 239V, 239W, 239Y, 240A, 240I, 240M, 240T,
241D, 241E, 241L, 241R, 241S, 241W, 241Y, 243E, 243H, 243L, 243Q, 243R,
243W, 243Y, 244H, 245A, 246D, 246E, 246H, 246Y, 247G, 247V, 249H, 249Q,
249Y, 255E, 255Y, 258H, 258S, 258Y, 260D, 260I, 260H, 260Y, 262A, 262E,
262F, 262I, 262T, 263 A, 263I, 263M, 263T, 264A, 264D, 264E, 264F, 264G,
15 264H, 264I, 264K, 264L, 264M, 264N, 264P, 264Q, 264R, 264S, 264T, 264W,
264Y, 265F, 265G, 265H, 265I, 265K, 265L, 265M, 265N, 265P, 265Q, 265R,
265S, 265T, 265V, 265W, 265Y, 266A, 266I, 266M, 266T, 267D, 267E, 267F,
267H, 267I, 267K, 267L, 267M, 267N, 267P, 267Q, 267R, 267T, 267V, 267W,
267Y, 268D, 268E, 268F, 268G, 268I, 268K, 268L, 268M, 268P, 268Q, 268R,
20 268T, 268V, 268W, 269F, 269G, 269H, 269I, 269K, 269L, 269M, 269N, 269P,
269R, 269S, 269T, 269V, 269W, 269Y, 270F, 270G, 270H, 270I, 270L, 270M,
270P, 270Q, 270R, 270S, 270T, 270W, 270Y, 271A, 271D, 271E, 271F, 271G,
271H, 271I, 271K, 271L, 271M, 271N, 271Q, 271R, 271S, 271T, 271V, 271W,
271Y, 272D, 272F, 272G, 272H, 272I, 272K, 272L, 272M, 272P, 272R, 272S,
25 272T, 272V, 272W, 272Y, 273I, 274D, 274E, 274F, 274G, 274H, 274T, 274L,
274M, 274N, 274P, 274R, 274T, 274V, 274W, 274Y, 275L, 275W, 276D, 276E,
276F, 276G, 276H, 276I, 276L, 276M, 276P, 276R, 276S, 276T, 276V, 276W,
276Y, 278D, 278E, 278G, 278H, 278I, 278K, 278L, 278M, 278N, 278P, 278Q,
278R, 278S, 278T, 278V, 278W, 280G, 280K, 280L, 280P, 280W, 281D, 281E,
30 281K, 281N, 281P, 281Q, 281Y, 282E, 282G, 282K, 282P, 282Y, 283G, 283H,
283K, 283L, 283P, 283R, 283Y, 284D, 284E, 284L, 284N, 284Q, 284T, 284Y,
285D, 285E, 285K, 285Q, 285W, 285Y, 286E, 286G, 286P, 286Y, 288D, 288E,
288Y, 290D, 290H, 290L, 290N, 290W, 291D, 291E, 291G, 291H, 291I, 291Q,

291T, 292D, 292E, 292T, 292Y, 293F, 293G, 293H, 293I, 293L, 293M, 293N,
293P, 293R, 293S, 293T, 293V, 293W, 293Y, 294F, 294G, 294H, 294I, 294K,
294L, 294M, 294P, 294R, 294S, 294T, 294V, 294W, 294Y, 295D, 295E, 295F,
295G, 295H, 295I, 295M, 295N, 295P, 295R, 295S, 295T, 295V, 295W, 295Y,
5 296A, 296D, 296E, 296G, 296H, 296I, 296K, 296L, 296M, 296N, 296Q, 296R,
296S, 296T, 296V, 297D, 297E, 297F, 297G, 297H, 297I, 297K, 297L, 297M,
297P, 297Q, 297R, 297S, 297T, 297V, 297W, 297Y, 298A, 298D, 298E, 298F,
298H, 298I, 298K, 298M, 298N, 298Q, 298R, 298T, 298W, 298Y, 299A, 299D,
299E, 299F, 299G, 299H, 299I, 299K, 299L, 299M, 299N, 299P, 299Q, 299R,
10 299S, 299V, 299W, 299Y, 300A, 300D, 300E, 300G, 300H, 300K, 300M, 300N,
300P, 300Q, 300R, 300S, 300T, 300V, 300W, 301D, 301 E, 301H, 301Y, 302I,
303D, 303E, 303Y, 304D, 304H, 304L, 304N, 304T, 305E, 305T, 305Y, 313F,
317E, 317Q, 318H, 318L, 318Q, 318R, 318Y, 320D, 320F, 320G, 320H, 320I,
320L, 320N, 320P, 320S, 320T, 320V, 320W, 320Y, 322D, 322F, 322G, 322H,
15 322I, 322P, 322S, 322T, 322V, 322W, 322Y, 323I, 324D, 324F, 324G, 324H, 324I,
324L, 324M, 324P, 324R, 324T, 324V, 324W, 324Y, 325A, 325D, 325E, 325F,
325G, 325H, 325I, 325K, 325L, 325M, 325P, 325Q, 325R, 325S, 325T, 325V,
325W, 325Y, 326E, 326I, 326L, 326P, 326T, 327D, 327E, 327F, 327H, 327I,
327K, 327L, 327M, 327N, 327P, 327R, 327S, 327T, 327V, 327W, 327Y, 328A,
20 328D, 328E, 328F, 328G, 328H, 328I, 328K, 328M, 328N, 328P, 328Q, 328R,
328S, 328T, 328V, 328W, 328Y, 329D, 329E, 329F, 329G, 329H, 329I, 329K,
329L, 329M, 329N, 329Q, 329R, 329S, 329T, 329V, 329W, 329Y, 330E, 330F,
330G, 330H, 330I, 330L, 330M, 330N, 330P, 330R, 330S, 330T, 330V, 330W,
330Y, 331D, 331F, 331H, 331I, 331L, 331M, 331Q, 331R, 331T, 331V, 331W,
25 331Y, 332A, 332D, 332E, 332F, 332H, 332K, 332L, 332M, 332N, 332P, 332Q,
332R, 332S, 332T, 332V, 332W, 332Y, 333A, 333F, 333H, 333I, 333L, 333M,
333P, 333T, 333Y, 334A, 334F, 334I, 334L, 334P, 334T, 335D, 335F, 335G,
335H, 335I, 335L, 335M, 335N, 335P, 335R, 335S, 335V, 335W, 335Y, 336E,
336K, 336Y, 337E, 337H ja 337N, kus nummerdus vastab EU indeksile.

30 14. Antikeha vastavalt punktile 5, mis erineb selle poolest, et aminohappe
modifikatsiooniks on 332E.

15. Antikeha vastavalt nõudluspunktile 14, mis erineb selle poolest, et sisaldab lisaks teist aminohappe modifikatsiooni rühmast: 236A, 239D, 332E, 268D, 268E, 330Y ja 330L.

5 16. Antikeha vastavalt punktile 15, mis erineb selle poolest, et teiseks aminohappe modifikatsiooniks on 239D.

17. Antikeha vastavalt punktile 4, mis erineb selle poolest, et nimetatud modifikatsiooniks on glükovormi modifikatsioon, mis vähendab võrreldes lähteantikehaga fukoosi taset.

10 18. Koostis, mis sisaldab mitut glükosüülitud antikeha ja umbes 80-100% koostises olevatest glükosüülitud antikehadest sisaldavad fukoosivaba küpse tuumaga süsivesiku struktuuri.

19. Antikeha vastavalt punktile 1, mis erineb selle poolest, et nimetatud antikeha vähendab lisaks võrreldes lähteantikehast anti-CD19 seondumist FcγRIIb-ga.

20. Nukleiinhappejärjestus, mis kodeerib mistahes punktide 1-17 antikeha.

15 21. Meetod B-rakuga seonduva haiguse ravimiseks ja nimetatud meetod hõlmab punktis 1 defineeritud antikeha manustamist.

20 22. Meetod vastavalt punktile 21, mis erineb selle poolest, et nimetatud haigus on valitud rühmast, kuhu kuuluvad: mitte-Hodgkini lümfoomid (MHL), krooniline lümfotsüütiline leukeemia (KLL), B-raku akuutne lümfoblastiline leukeemia/lümfoom (B-ALL) ja mantelraku lümfoom (MRL).

23. Punkti 21 meetod, mis erineb selle poolest, et haiguseks on autoimmuunne haigus.

25 24. Meetod vastavalt punktile 23, mis erineb selle poolest, et nimetatud autoimmuunne haigus on valitud rühmast, kuhu kuuluvad: reumatoidartriit (RA), süsteemne erütematoosartriit (SLE või luupus), sclerosis multiplex, Sjorgeni sündroom ja idiopaatiline trombotsütopeeniline purpur (ITP).

25. Ravimkoostis, mis sisaldab punkti 1 antikeha ja farmatseutiliselt sobivat tugiainet.

Patendinõudlus

1. Antikeha, mis seob CD19, nimetatud antikeha sisaldab kerget ahelat, mis hõlmab SEQ ID NO: 106 ja rasket ahelat, mis hõlmab SEQ ID NO: 87.
2. Koostis, mis sisaldab mitut glükosüülitud antikeha vastavalt nõudluspunktile 1, milles 80-100% koostises olevast glükosüülitud antikehast sisaldab fukoosivaba kúpse tuumaga süsivesiku struktuuri.
3. Ravimkoostis, mis sisaldab antikeha vastavalt nõudluspunktile 1 või koostist vastavalt nõudluspunktile 2 ja farmatseutiliselt sobivat tugiainet.
4. Nukleiinhape, mis kodeerib raske ahela järjestust ja kerge ahela järjestust vastavalt nõudluspunktile 1.
5. Antikeha vastavalt nõudluspunktile 1 või koostis vastavalt ükskõik millisele nõudluspunktile 2-3, kasutamiseks haiguse raviks, mis on valitud rühmast, kuhu kuuluvad mitte-Hodgkini lümfoomid (MHL), krooniline lümfotsüütiline leukeemia (KLL), B-raku akuutne lümfoblastiline leukeemia/lümfoom (B-ALL) ja mantelraku lümfoom (MRL).

FIG 1

> Inimese **CD19 (SEQ ID NO:1)**.

MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRESPLKPF
LKLSLGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGEL
FRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSL
NQSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDM
WVMETGLLLPRATAQDAGKYCHRGNTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAY
LIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRKRMTDPTRFFKVTPPPQSGPQNQYGNVLSLPTPTSGL
GRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPPEEEEGEGYEEDSEEDSE
FYENDSNLGGDQLSQDGSYENPEDEPLGPEDEDSFSNAESYENEDEELTQPVARTMDFL
SPHGSAWDPSREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPD
GPDPAWGGGGGRMGWTR

FIG 2

Kappa konstantse piirkonna kerge ahel **(C α) (SEQ ID NO:2)**

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

IgG1 konstantse piirkonna raske ahel **(CH) (SEQ ID NO:3)**

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

IgG2 konstantse piirkonna raske ahel **(CH) (SEQ ID NO:4)**

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
SVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS
LTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

IgG3 konstantse piirkonna raske ahel **(CH) (SEQ ID NO:5)**

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCD
TPPCPRCPEPKSCDTPPCPRCPEPKSCDTPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG
FPYSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCVMHEAL
HNRFTQKSLSLSPGK

IgG4 konstantse piirkonna raske ahel **(CH) (SEQ ID NO:6)**

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV
SLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF
SCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGLK

Hübriidi konstantse piirkonna raske ahel **(CH) (SEQ ID NO:7)**

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF
RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Hübriidi konstantse piirkonna raske ahel (CH) koos 239D ja 332E asendustega **(SEQ ID NO:8)**

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPD
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF
RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

FIG 3a

CH1																												
EU indeks	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138							
IgG1	A	S	T	K	G	P	S	V	F	P	L	A	P	S	S	K	S	T	S	G	G							
IgG2	A	S	T	K	G	P	S	V	F	P	L	A	P	C	S	R	S	T	S	E	S							
IgG3	A	S	T	K	G	P	S	V	F	P	L	A	P	C	S	R	S	T	S	G	G							
IgG4	A	S	T	K	G	P	S	V	F	P	L	A	P	C	S	R	S	T	S	E	S							
EU indeks	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159							
IgG1	T	A	A	L	G	C	L	V	K	D	Y	F	P	E	P	V	T	V	S	W	N							
IgG2	T	A	A	L	G	C	L	V	K	D	Y	F	P	E	P	V	T	V	S	W	N							
IgG3	T	A	A	L	G	C	L	V	K	D	Y	F	P	E	P	V	T	V	S	W	N							
IgG4	T	A	A	L	G	C	L	V	K	D	Y	F	P	E	P	V	T	V	S	W	N							
EU indeks	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180							
IgG1	S	G	A	L	T	S	G	V	H	T	F	P	A	V	L	Q	S	S	G	L	Y							
IgG2	S	G	A	L	T	S	G	V	H	T	F	P	A	V	L	Q	S	S	G	L	Y							
IgG3	S	G	A	L	T	S	G	V	H	T	F	P	A	V	L	Q	S	S	G	L	Y							
IgG4	S	G	A	L	T	S	G	V	H	T	F	P	A	V	L	Q	S	S	G	L	Y							
EU indeks	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201							
IgG1	S	L	S	S	V	V	T	V	P	S	S	S	L	G	T	Q	T	Y	I	C	N							
IgG2	S	L	S	S	V	V	T	V	P	S	S	N	F	G	T	Q	T	Y	T	C	N							
IgG3	S	L	S	S	V	V	T	V	P	S	S	S	L	G	T	Q	T	Y	T	C	N							
IgG4	S	L	S	S	V	V	T	V	P	S	S	S	L	G	T	K	I	Y	T	C	N							
EU indeks	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220									
IgG1	V	N	H	K	P	S	N	T	K	V	D	K	K	V	E	P	K	S	C									
IgG2	V	D	H	K	P	S	N	T	K	V	D	K	T	V	E	R	K	C	C									
IgG3	V	N	H	K	P	S	N	T	K	V	D	K	R	V	E	L	K	T	P									
IgG4	V	D	H	K	P	S	N	T	K	V	D	K	R	V	E	S	K	Y	G									
Hinge-piirkond																												
											Fc	>																
EU indeks	221				222	223	224	225	226	227	228																	
IgG1	D				K	T	H	T	C	P	P																	
IgG2					V		E		C	P	P																	
IgG3	L	G	D	T	T	H	T	C	P	R	C	P	E	P	K	S	C	D	T	P	P							
IgG4								P	P	C	P	S																
EU indeks																												
IgG1																												
IgG2																												
IgG3	P	C	P	R	C	P	E	P	K	S	C	D	T	P	P	P	C	P	R	C	P							
IgG4																												
											Fc	>																
EU indeks											229	230	231	232	233	234	235	236										
IgG1											C	P	A	P	E	L	L	G										
IgG2											C	P	A	P	P	V	A											
IgG3	E	P	K	S	C	D	T	P	P	P	C	P	R	C	P	A	P	E	L	L	G							
IgG4											C	P	A	P	E	F	L	G										

FIG 3b

CH2		237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257
EU indeks		Q	P	S	V	F	L	F	P	P	K	P	K	D	T	L	M	I	S	R	T	P
IgG1		G	P	S	V	F	L	F	P	P	K	P	K	D	T	L	M	I	S	R	T	P
IgG2		G	P	S	V	F	L	F	P	P	K	P	K	D	T	L	M	I	S	R	T	P
IgG3		G	P	S	V	F	L	F	P	P	K	P	K	D	T	L	M	I	S	R	T	P
IgG4		G	P	S	V	F	L	F	P	P	K	P	K	D	T	L	M	I	S	R	T	P
CH2		258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278
EU indeks		E	V	T	C	V	V	V	D	V	S	H	E	D	P	E	V	K	F	N	W	Y
IgG1		E	V	T	C	V	V	V	D	V	S	H	E	D	P	E	V	Q	F	N	W	Y
IgG2		E	V	T	C	V	V	V	D	V	S	H	E	D	P	E	V	Q	F	N	W	Y
IgG3		E	V	T	C	V	V	V	D	V	S	H	E	D	P	E	V	Q	F	N	W	Y
IgG4		E	V	T	C	V	V	V	D	V	S	H	E	D	P	E	V	Q	F	N	W	Y
CH2		279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299
EU indeks		V	D	G	V	E	V	H	N	A	K	T	K	P	R	E	E	O	Y	N	S	T
IgG1		V	D	G	V	E	V	H	N	A	K	T	K	P	R	E	E	O	F	N	S	T
IgG2		V	D	G	V	E	V	H	N	A	K	T	K	P	R	E	E	O	Y	N	S	T
IgG3		V	D	G	V	E	V	H	N	A	K	T	K	P	R	E	E	O	Y	N	S	T
IgG4		V	D	G	V	E	V	H	N	A	K	T	K	P	R	E	E	O	F	N	S	T
CH2		300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320
EU indeks		Y	R	V	V	S	V	L	T	V	L	H	Q	D	W	L	N	G	K	E	Y	K
IgG1		F	R	V	V	S	V	L	T	V	V	H	Q	D	W	L	N	G	K	E	Y	K
IgG2		F	R	V	V	S	V	L	T	V	V	H	Q	D	W	L	N	G	K	E	Y	K
IgG3		F	R	V	V	S	V	L	T	V	V	H	Q	D	W	L	N	G	K	E	Y	K
IgG4		Y	R	V	V	S	V	L	T	V	L	H	Q	D	W	L	N	G	K	E	Y	K
CH2		321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	
EU indeks		C	K	V	S	N	K	A	L	P	A	P	I	E	K	T	I	S	K	A	K	
IgG1		C	K	V	S	N	K	A	L	P	A	P	I	E	K	T	I	S	K	A	K	
IgG2		C	K	V	S	N	K	A	L	P	A	P	I	E	K	T	I	S	K	A	K	
IgG3		C	K	V	S	N	K	A	L	P	A	P	I	E	K	T	I	S	K	A	K	
IgG4		C	K	V	S	N	K	A	L	P	S	S	I	E	K	T	I	S	K	A	K	
CH3		341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361
EU indeks		G	Q	P	R	E	P	Q	V	Y	T	L	P	P	S	R	D	E	L	T	K	N
IgG1		G	Q	P	R	E	P	Q	V	Y	T	L	P	P	S	R	E	E	M	T	K	N
IgG2		G	Q	P	R	E	P	Q	V	Y	T	L	P	P	S	R	E	E	M	T	K	N
IgG3		G	Q	P	R	E	P	Q	V	Y	T	L	P	P	S	R	E	E	M	T	K	N
IgG4		G	Q	P	R	E	P	Q	V	Y	T	L	P	P	S	Q	E	E	M	T	K	N
CH3		362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382
EU indeks		Q	V	S	L	T	C	L	V	K	G	F	Y	P	S	D	I	A	V	E	W	E
IgG1		Q	V	S	L	T	C	L	V	K	G	F	Y	P	S	D	I	A	V	E	W	E
IgG2		Q	V	S	L	T	C	L	V	K	G	F	Y	P	S	D	I	A	V	E	W	E
IgG3		Q	V	S	L	T	C	L	V	K	G	F	Y	P	S	D	I	A	V	E	W	E
IgG4		Q	V	S	L	T	C	L	V	K	G	F	Y	P	S	D	I	A	V	E	W	E
CH3		383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403
EU indeks		S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	T	P	P	V	L	D	S	D	G	S
IgG1		S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	T	P	P	M	L	D	S	D	G	S
IgG2		S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	T	P	P	M	L	D	S	D	G	S
IgG3		S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	N	T	T	P	P	M	L	D	S	D	G	S
IgG4		S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	T	P	P	V	L	D	S	D	G	S
CH3		404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423	424
EU indeks		F	F	L	Y	S	K	L	T	V	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N	V	F	S
IgG1		F	F	L	Y	S	K	L	T	V	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N	V	F	S
IgG2		F	F	L	Y	S	K	L	T	V	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N	V	F	S
IgG3		F	F	L	Y	S	K	L	T	V	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N	I	F	S
IgG4		F	F	L	Y	S	R	L	T	V	D	K	S	R	W	Q	E	G	N	V	F	S
CH3		425	426	427	428	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
EU indeks		C	S	V	M	H	E	A	L	H	N	H	Y	T	Q	K	S	L	S	L	S	P
IgG1		C	S	V	M	H	E	A	L	H	N	H	Y	T	Q	K	S	L	S	L	S	P
IgG2		C	S	V	M	H	E	A	L	H	N	H	Y	T	Q	K	S	L	S	L	S	P
IgG3		C	S	V	M	H	E	A	L	H	N	R	F	T	Q	K	S	L	S	L	S	P
IgG4		C	S	V	M	H	E	A	L	H	N	H	Y	T	Q	K	S	L	S	L	S	L
CH3		446	447																			
EU indeks		G	K																			
IgG1		G	K																			
IgG2		G	K																			
IgG3		G	K																			
IgG4		G	K																			

FIG 4a

allotüüp	allotüüp	positsioon		
		214	356 358	431
G1m(1,17)	G1m(a,z)	K	DL	A
G1m(1,2,17)	G1m(a,x,z)	K	DL	G
G1m(3)	G1m(f)	R	EM	A
G1m(1,3)	G1m(a,f)	R	DL	A

FIG 4b

allotüüp	allotüüp	positsioon
		282
G2m(23)	G2m(n+)	V
	G2m(n-)	M

FIG 5

Retseptori sidumise paranemine	Retseptori sidumise vähenemine	Raku aktiivsus	Terapeutiline aktiivsus
Ainult I	-	Dendriitrakkude aktiivsuse ja omastamise ning järgneva antigeenide esitamise paranemine; monotsüütide ja makrofaagide reaktsiooni paranemine antikeha suhtes	Rakupõhise immuunvastuse paranemine märklauda suhtes
IIIa		ADCC ja fagotsütoosi paranemine erinevate rakutüüpide korral	Suurenenud märklaudrakkude lahustumine
IIIa	IIb	ADCC ja fagotsütoosi paranemine erinevate rakutüüpide korral	Suurenenud märklaudrakkude lahustumine
IIb, IIc		Kõikide FcR omavate rakutüüpide, v.a NK rakkude, aktiivsuse vähenemine ja võimalik NK rakkude aktiveerimine läbi IIc retseptori signaalsiooni	Märklaudraku lahustumise paranemine, mis on selektiivne NK raku poolt juurdepääsetavate märklaudrakkude suhtes
IIb, IIIa	-	Võimalik NK rakkude spetsiifiline aktiveerimine ja NK raku vahendatud ADCC paranemine	Märklaudraku lahustumise paranemine, mis on selektiivne NK raku poolt juurdepääsetavate märklaudrakkude suhtes
IIIb		Neutrofiili vahendatud fagotsütoosi paranemine	Parem märklaudrakkude hävitamine neutrofiili poolt juurdepääsetavate rakkude korral
Fc α R		Neutrofiili vahendatud fagotsütoosi paranemine	Parem märklaudrakkude hävitamine neutrofiili poolt juurdepääsetavate rakkude korral
I,IIa,IIIa	IIb	Dendriitrakkude aktiivsuse ja omastamise ning järgneva antigeenide T-rakkudele esitamise paranemine; paranenud monotsüüdi ja makrofaagi reaktsioon antikehale.	Parem rakupõhine immuunvastus märklauda suhtes
IIb	IIIa,IIa,I	Monotsüütide, makrofaagide, neutrofiilide, NK, dendriitrakkude ja muude gamma-retseptorit sisaldavate rakkude aktiivsuse vähenemine	Raku vahendatud tsütotoksilisuse kadumine või vähenemine märklauda omavate rakkude vastu

FIG 6a

> H0 4G7 (SEQ ID NO:9)

EVQLQQSGPELIKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTKY
NEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGTYYYGSRVFDYWGQGTTLTVS
S

> L0 4G7 (SEQ ID NO:10)

DIVMTQAAPSIPVTPGESVVISCRSSKLLNSNGNTYLYWFLQRPGQSPQLLIYRMSNLASG
VPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLELK

> H0 HD37 (SEQ ID NO:11)

QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDT
NYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQG
TSVTVSS

> L0 HD37 (SEQ ID NO:12)

DILLTQTPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIP
PRFSGSGSGTDFTLNHPVEKVDAAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK

FIG 6b

> 4G7 VH CDR1 (SEQ ID NO:132):	SYVMH
> 4G7 VH CDR2 (SEQ ID NO:133):	YINPYNDGTKYNEKFKG
> 4G7 VH CDR3 (SEQ ID NO:134):	GTYYYGSRVFDY
> 4G7 VL CDR1 (SEQ ID NO:135):	RSSKLLNSNGNTYLY
> 4G7 VL CDR2 (SEQ ID NO:136):	RMSNLAS
> 4G7 VL CDR3 (SEQ ID NO:137):	MQHLEYPFT
> HD37 VH CDR1 (SEQ ID NO:138):	SYWMN
> HD37 VH CDR2 (SEQ ID NO:139):	QIWPGDGDTNYNGKFKG
> HD37 VH CDR3 (SEQ ID NO:140):	RETTTVGRYYYAMDY
> HD37 VL CDR1 (SEQ ID NO:141):	KASQSVDYDGDSYLN
> HD37 VL CDR2 (SEQ ID NO:142):	DASNLVS
> HD37 VL CDR3 (SEQ ID NO:143):	QQSTEDPWT

FIG 7

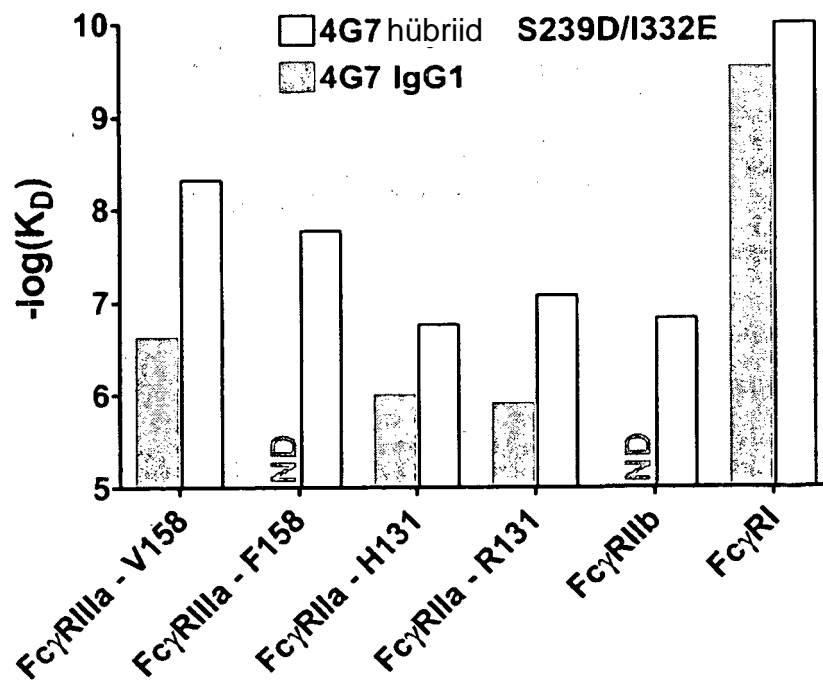


FIG 8a

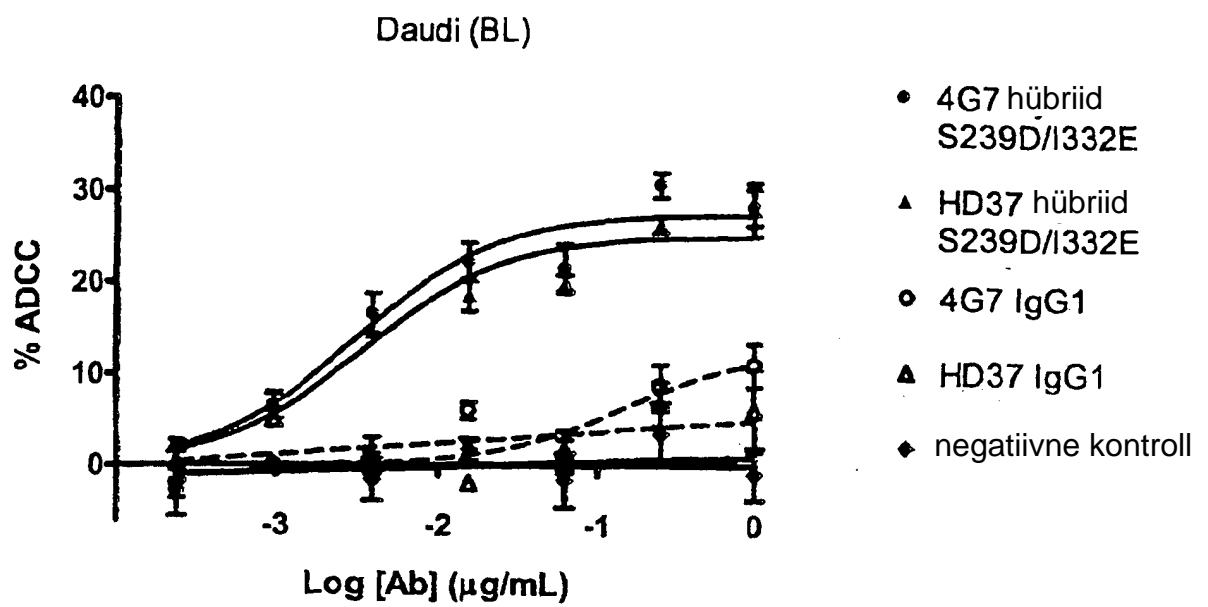


FIG 8b

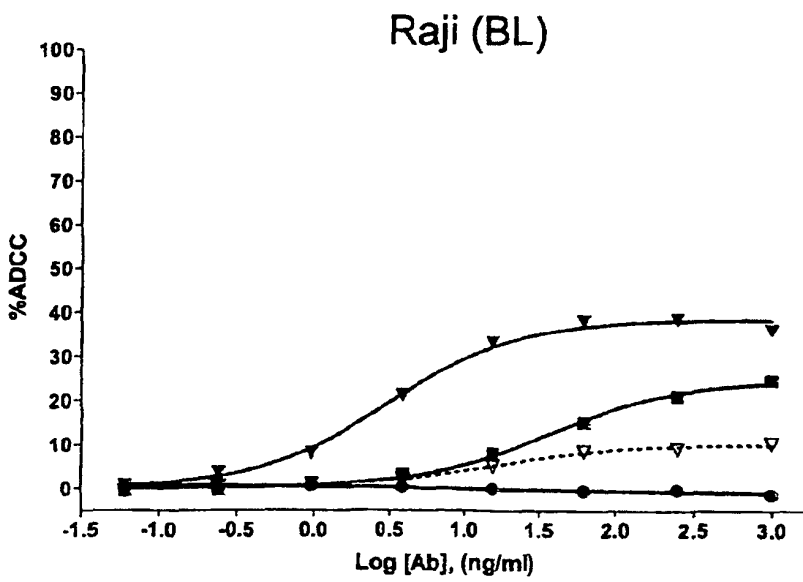
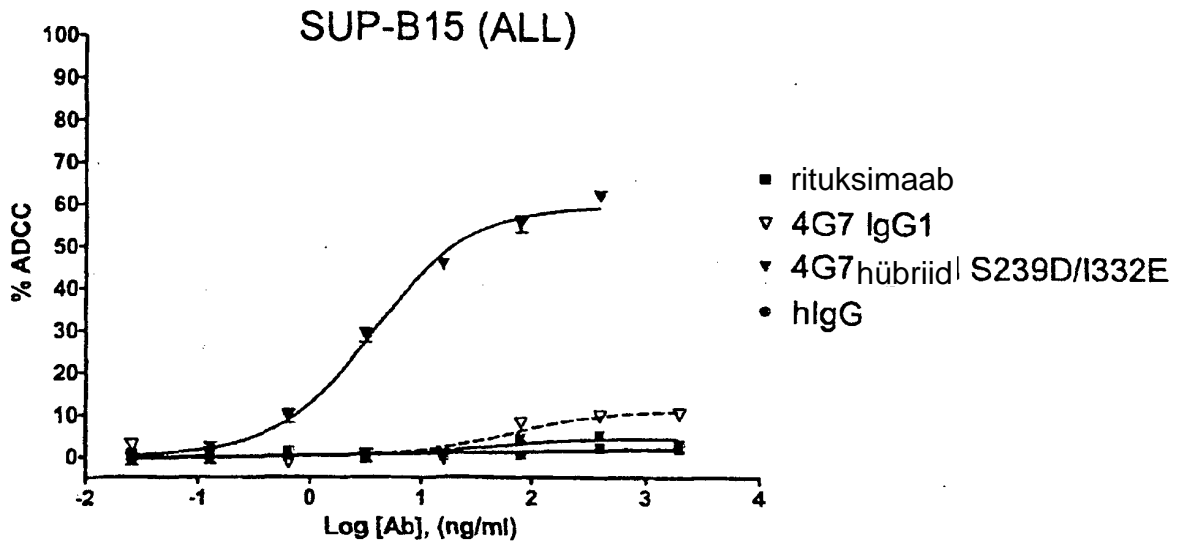


FIG 9

4G7 seondumine Raji rakkudel

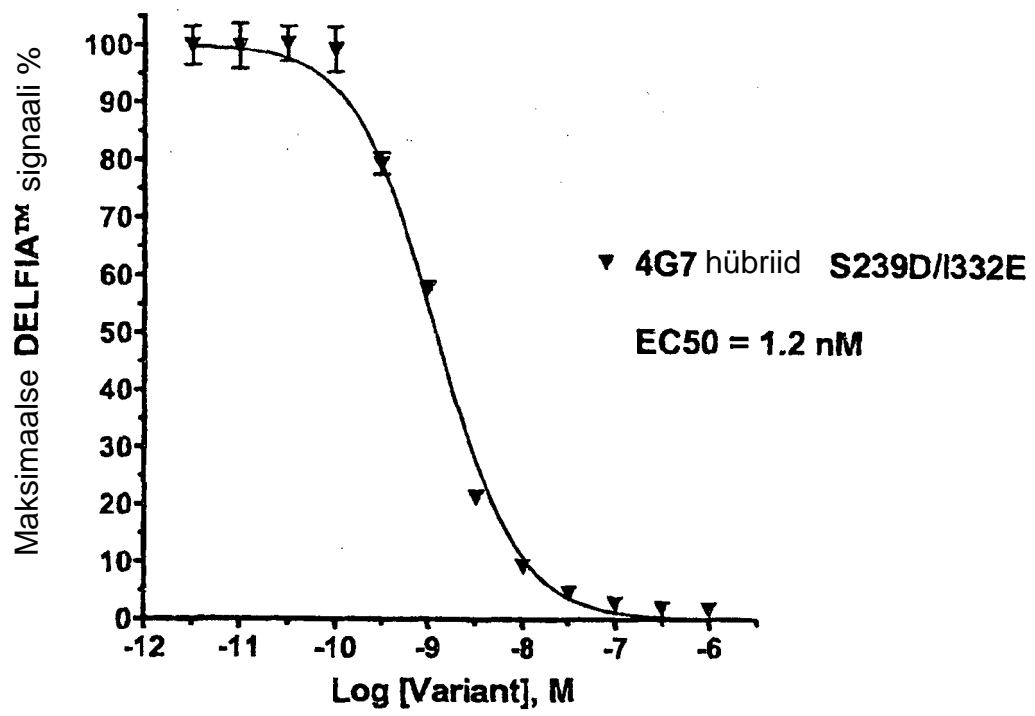


FIG 10a

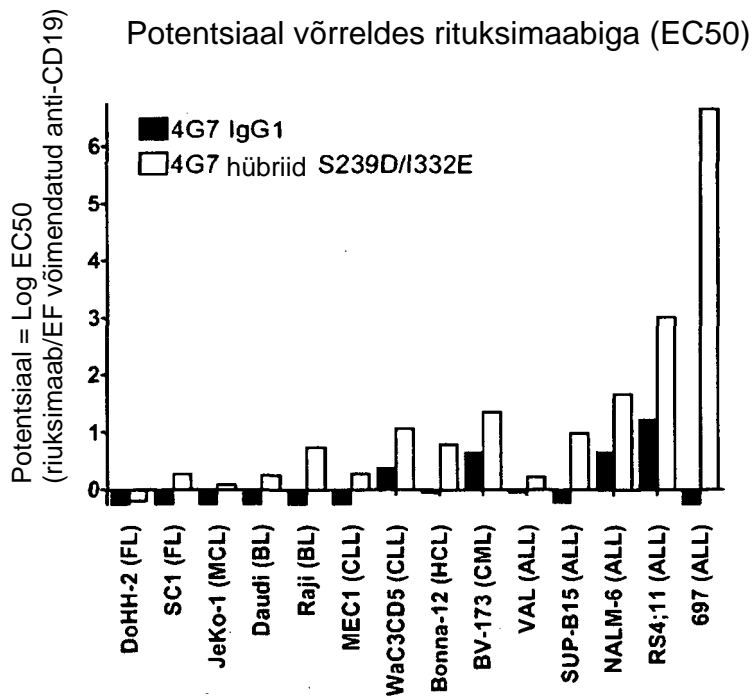
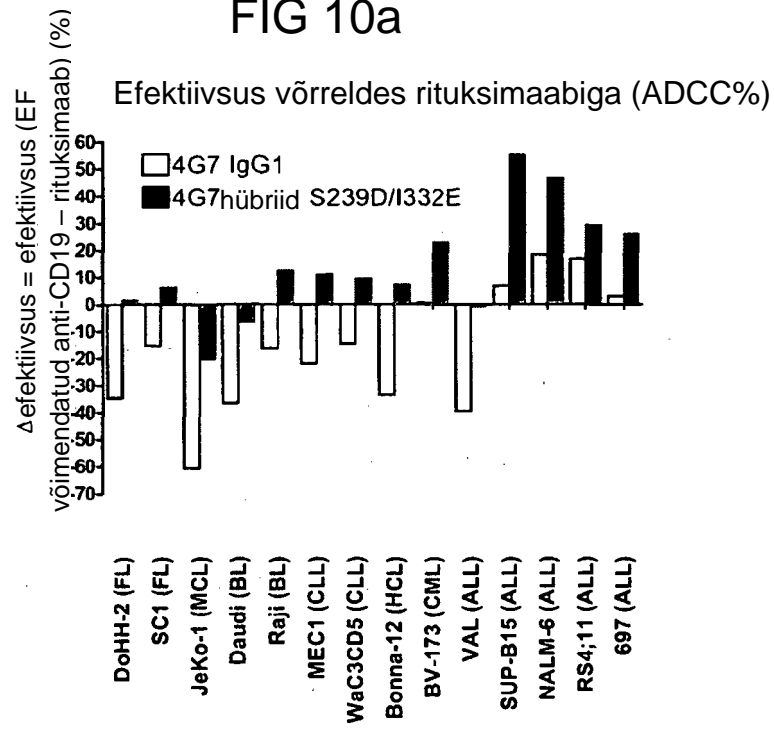


FIG 10b

Kasvairaku tüüp	Rakuliin
karvrakuline leukeemia (KRL)	Bonna 12
mantelraku lümfoom (MFL)	Jeko-1
krooniline lümfotsüütiline leukeemia (KLL)	Wac3CD5, MEC-1
lBurkitti lümfoom	Daudi, Raji
krooniline müeloidne leukeemia (KML)	BV-173
follikulaarne lümfoom (FL)	DoHH-2, SC1
akuutne lümfoblastiline leukeemia (ALL)	VAL, SUP-B15, NALM-6, RS4;11, 697

FIG 11

> H1 4G7 (SEQ ID NO:13)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGSRVFDYWGQGLTVTVSS

> H2 4G7 (SEQ ID NO:14)

QVQLQESGSLVKPGGSLRLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWMGYINPYNDGTK
YNESLKSRTISSDKSISTAYMELSSLRAEDTAVYYCARGTYYYGSRVFDYWGQGLTVTVS
S

> H3 4G7 (SEQ ID NO:15)

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGYTFTSYVMHWVRQMPGKGLEWMGYINPYNDGTK
YNEKFQGRVTITSDKSTSTAYMELSLRSDDTAVYYCARGTYYYGSRVFDYWGQGLTVTV
SS

> H4 4G7 (SEQ ID NO:16)

EVQLQQSGPEVKKPGTSVKVSCASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLVWVSYINPYNDGTK
YNESLKSRTISSDKSISTAYLQMNLSLRAEDTAVYYCARGTYYYGSRVFDYWGQGLTVTVS
S

FIG 12

> L1 4G7 (SEQ ID NO:17)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKLLNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTISLLEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

> L2 4G7 (SEQ ID NO:18)

DIVMTQSPSSLSASVGDRTISCRSSKLLNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDVAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

> L3 4G7 (SEQ ID NO:19)

DIVMTQSPATLSVSPGERATISCRSSKLLNSNGNTYLYWFLQKPGQSPQLLIYRMSNLASG
VPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEADVGVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

FIG 13

> H1 HD37 (SEQ ID NO:20)

TVQLVESGGGWRPGGSLRLSCAASGYAFSSYWMNWVRQAPGKGLEWIGQIWPGDGDT
NYNGKFQDRVTITADESTSTAYMELRSLRSDDTAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGT
LTVSS

> H2 HD37 (SEQ ID NO:21)

QVQLVESGGGLVEPGGSLRLSCAASGYAFSSYWMNWVRQMPGKGLEWMGQIWPGDGD
TNYNPSLKSRTITADESTSTAYMELSSLKAEDTAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGT
LTVSS

> H3 HD37 (SEQ ID NO:22)

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCAASGYAFSSYWMNWVRQAPGKGLEWMGQIWPGDGDT
NYNGALKSRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGT
LTVSS

> H4 HD37 (SEQ ID NO:23)

EVQLVQSGSELKPKGASVKVSKASGYAFSSYWMNWVRQAPGKGLEWVAQIWPGDGDT
NYADSVKGRFTITADESTSTAYLQMNSLRAGDTAMYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGT
LTVSS

FIG 14

> L1 HD37 (SEQ ID NO:24)

DILLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVVDYDGD SYLNWYQQKPGQPPKLLIYDASNLVSGI
PPRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK

> L2 HD37 (SEQ ID NO:25)

DILLTQSPSSLSVTPGEKVTITCRASQSVVDYDGD SYLNWYQQKPGQPPKLLIYDASNLVSGI
PPRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK

> L3 HD37 (SEQ ID NO:26)

DILLTQTPLSLPVTPEPASISCRASQSVVDYDGD SYLNWYQQKPGQPPKLLIYDASNLVSGI
PPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK

FIG 15a

4G7

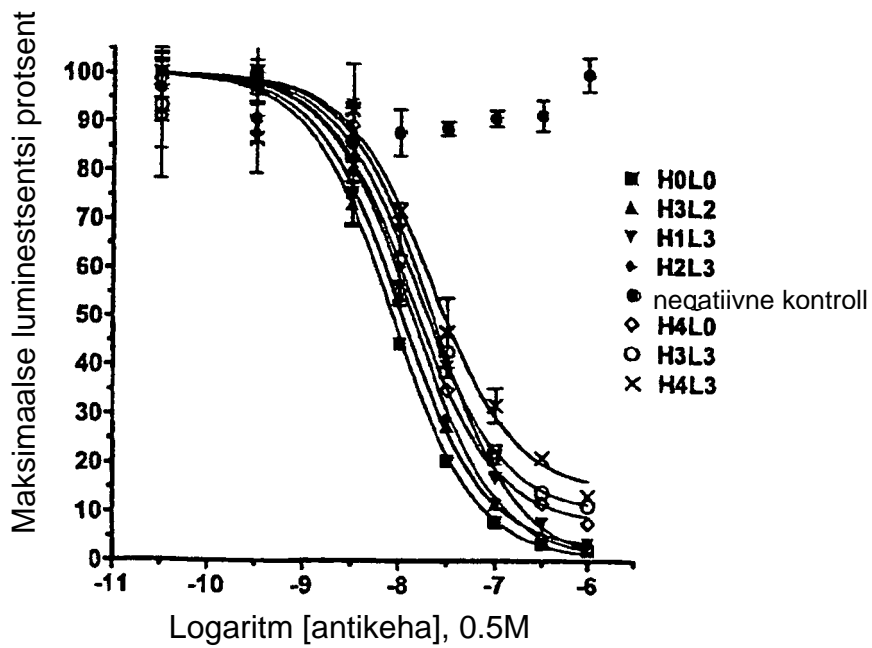
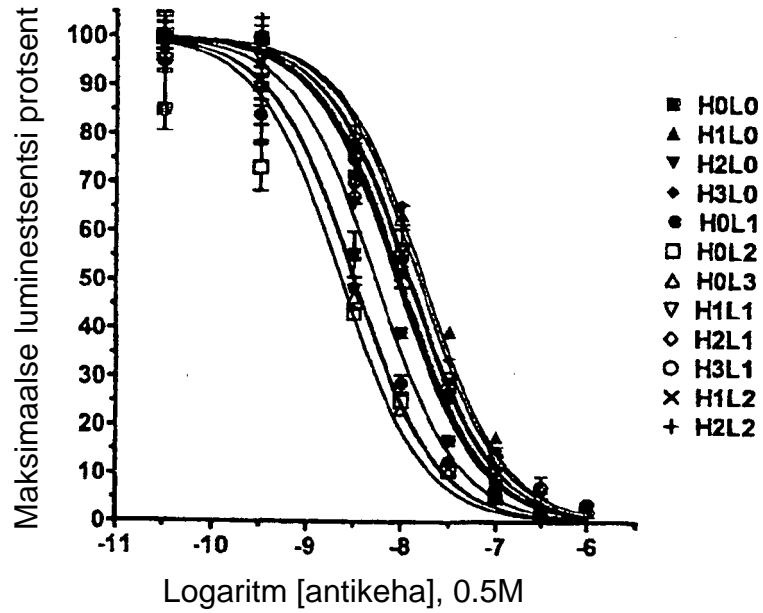


FIG 15b

MEC-1

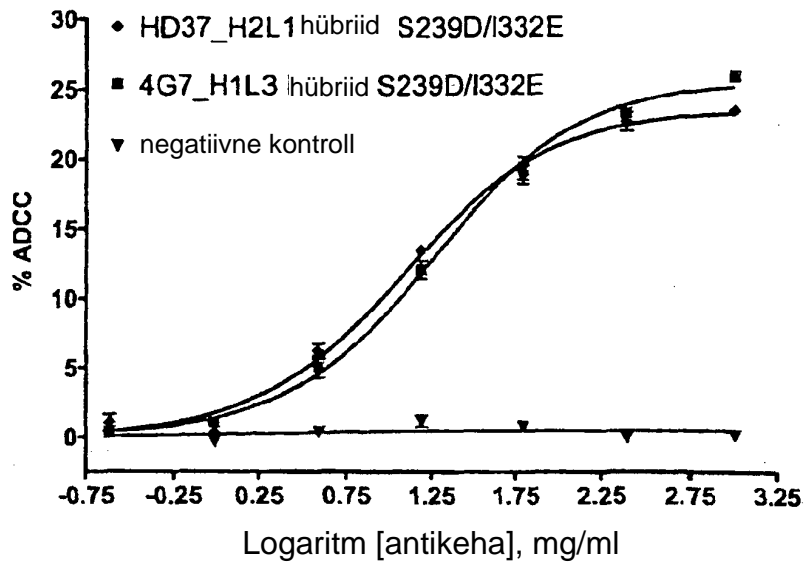


FIG 16

Afiinsuse paranemine

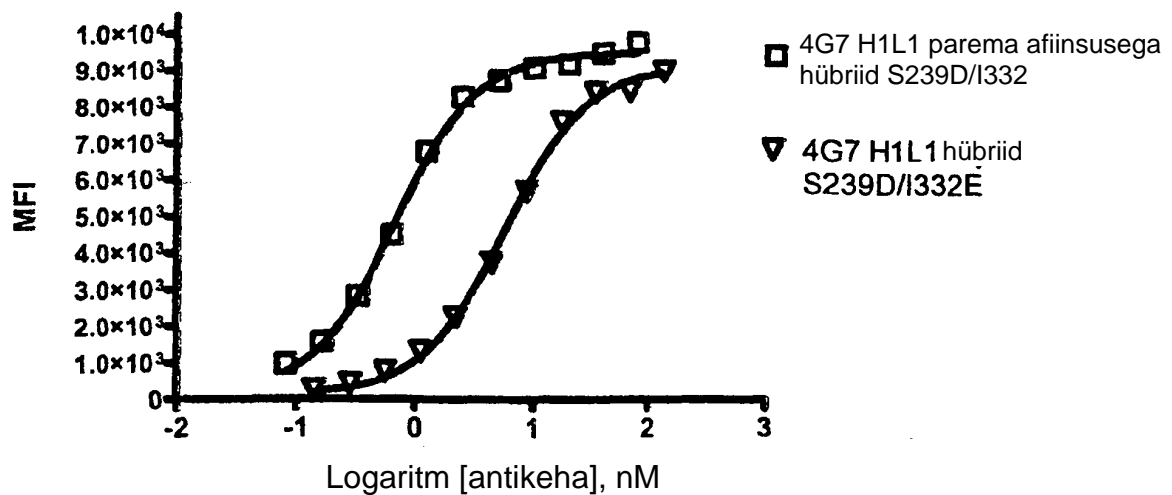


FIG 17

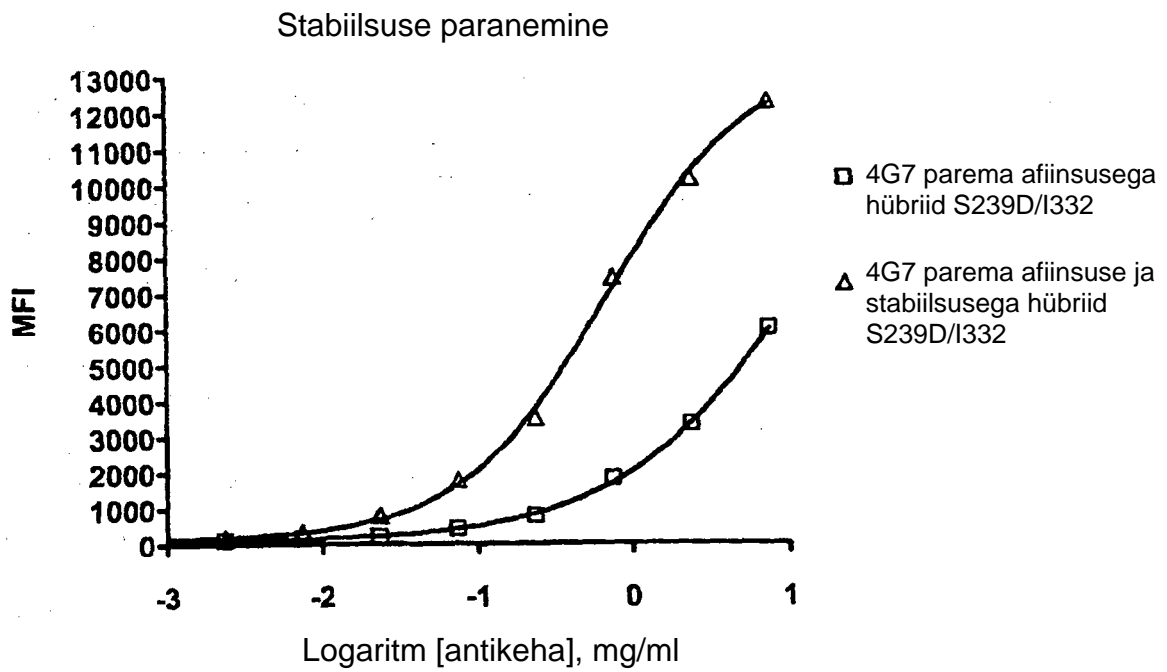


FIG 18

> 4G7 H1.109 (SEQ ID NO:27)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGPKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGSRVFDYWGQGLTVTVSS

> 4G7 H1.113 (SEQ ID NO:28)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGHKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGSRVFDYWGQGLTVTVSS

> 4G7 H1.144 (SEQ ID NO:29)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGSRVFNYWGQGLTVTVSS

> 4G7 H1.146 (SEQ ID NO:30)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGSRVFHYWGQGLTVTVSS

> 4G7 H1.147 (SEQ ID NO:31)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGSRVFSYWGQGLTVTVSS

> 4G7 H1.191 (SEQ ID NO:32)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTEY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS

> 4G7 H1.192 (SEQ ID NO:33)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGPKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS

> 4G7 H1.196 (SEQ ID NO:34)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGPKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTSVFDYWGQGLTVTVSS

> 4G7 H1.199 (SEQ ID NO:35)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGPEY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS

> 4G7 H1.201 (SEQ ID NO:36)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNSGTKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS

> 4G7 H1.202 (SEQ ID NO:37)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNEGTKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS

> 4G7 H1.203 (SEQ ID NO:38)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNSGTEY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS

FIG 18 (järgneb)

> 4G7 H1.204 (SEQ ID NO:39)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNEGTEY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLLTVSS

> 4G7 H1.52 (SEQ ID NO:40)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLLTVSS

> 4G7 H1.60 (SEQ ID NO:41)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGLRVFDYWGQGTLLTVSS

> 4G7 H1.62 (SEQ ID NO:42)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGSEVFDYWGQGTLLTVSS

> 4G7 H1.65 (SEQ ID NO:43)

EVQIVFSGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGSSVFDYWGQGTLLTVSS

> 4G7 H1.78 (SEQ ID NO:44)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNAGTKY
NEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGSRVFDYWGQGTLLTVSS

FIG 19

> 4G7 L1.11 (SEQ ID NO:45)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLYNPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.124 (SEQ ID NO:46)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNWAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.138 (SEQ ID NO:47)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.139 (SEQ ID NO:48)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPNTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.141 (SEQ ID NO:49)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPNTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.143 (SEQ ID NO:50)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.144 (SEQ ID NO:51)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPNTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.145 (SEQ ID NO:52)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.146 (SEQ ID NO:53)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPNTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.148 (SEQ ID NO:54)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPNTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.149 (SEQ ID NO:55)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.152 (SEQ ID NO:56)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPNTFGAGTKLEIK

FIG 19 (järgneb)

> 4G7 L1.154 (SEQ ID NO:57)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPNTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.155 (SEQ ID NO:58)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.160 (SEQ ID NO:59)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNANTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.161 (SEQ ID NO:60)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNSNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.162 (SEQ ID NO:61)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNANANTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.163 (SEQ ID NO:62)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNANSNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.164 (SEQ ID NO:63)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNANGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.17 (SEQ ID NO:64)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLYTPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.19 (SEQ ID NO:65)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLYPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.26 (SEQ ID NO:66)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.3 (SEQ ID NO:67)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMQNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.32 (SEQ ID NO:68)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

FIG 19 (järgneb)

> 4G7 L1.46 (SEQ ID NO:69)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSHLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.54 (SEQ ID NO:70)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSGGLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.55 (SEQ ID NO:71)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSYLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.64 (SEQ ID NO:72)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.67 (SEQ ID NO:73)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPVTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.68 (SEQ ID NO:74)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPNTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.8 (SEQ ID NO:75)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMKNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.80 (SEQ ID NO:76)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.9 (SEQ ID NO:77)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMLNLAS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.92 (SEQ ID NO:78)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLLS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

> 4G7 L1.96 (SEQ ID NO:79)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLNNSNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNS
GVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLEIK

FIG 20

anti-inimese IgG (10x liig)

Anti-CD19 (100 ng/ml)

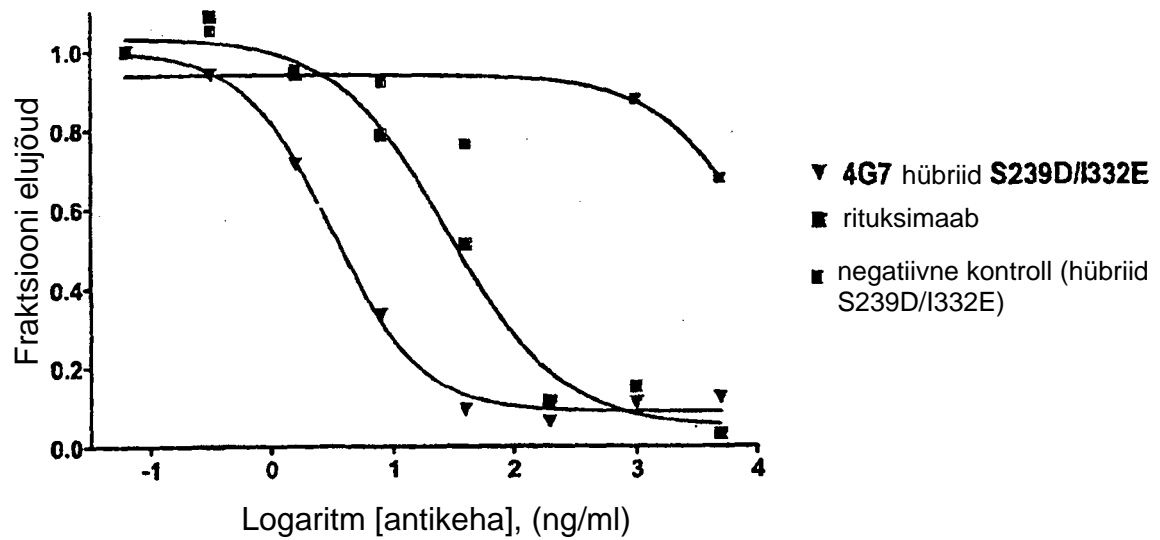
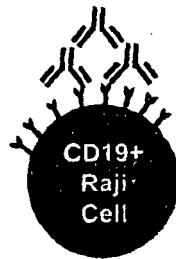
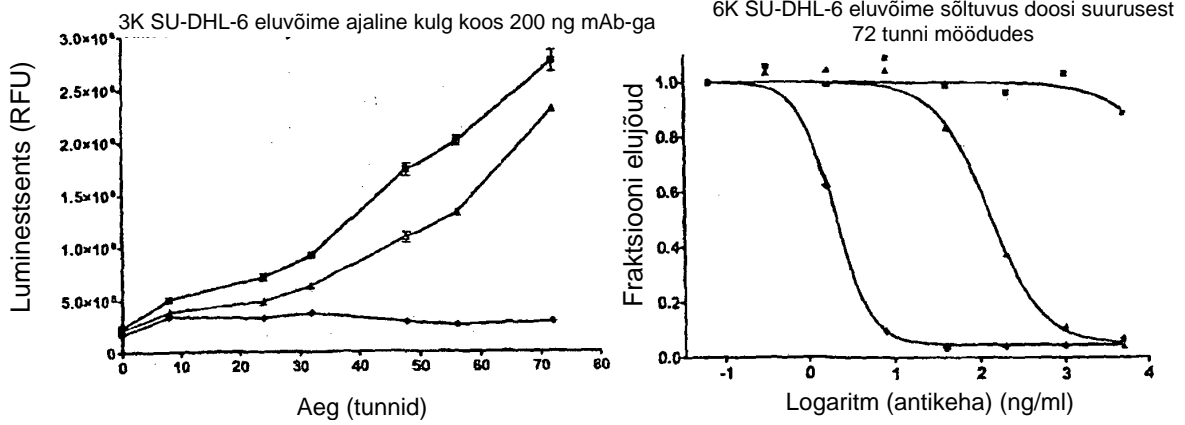
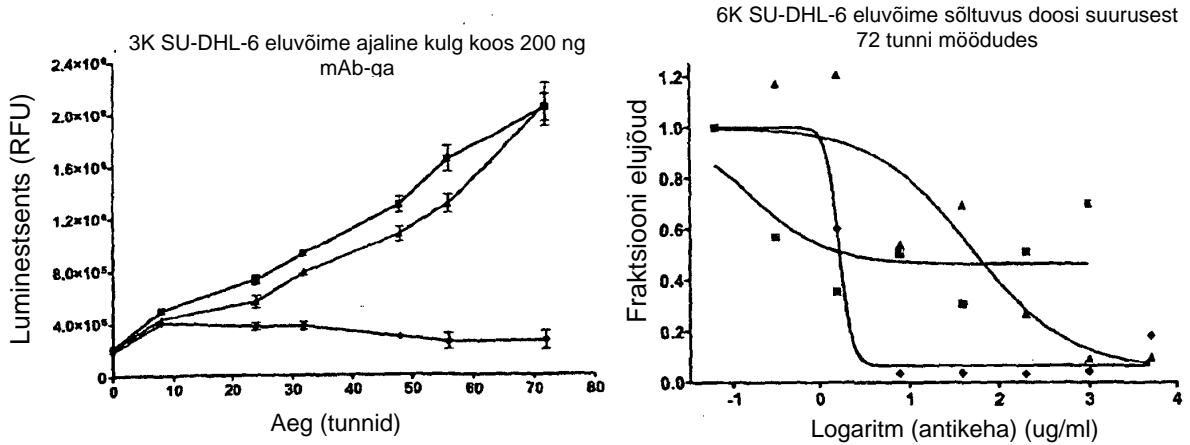


FIG 21

Sekundaarse anti-Fc mAb-ga ristseotud

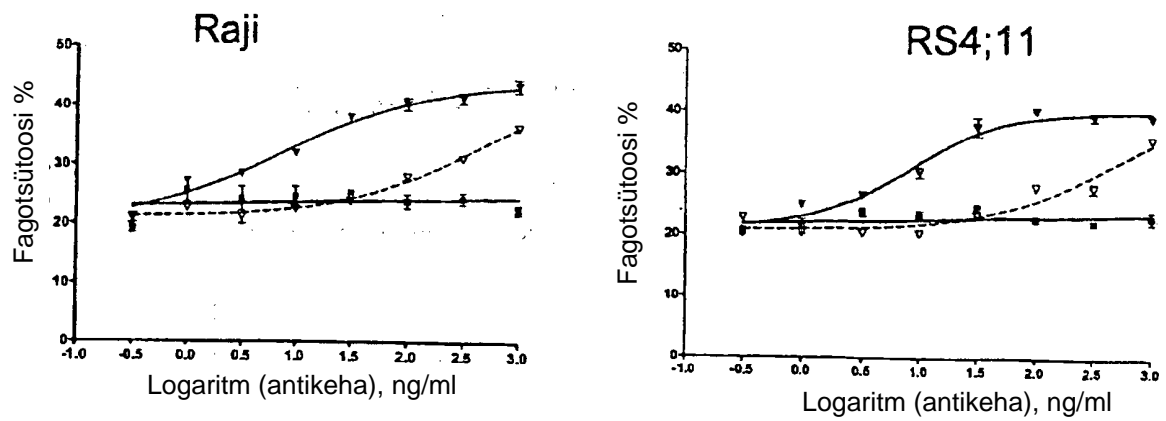


Sekundaarse anti-Fc mAb-ga ristsidumata



- ◆ 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübrid S239D/I332E
- ▲ rituksimaab
- isotüübi kontroll

FIG 22



▽ 4G7 IgG1

▼ 4G7 parema stabiilsuse ja afiinsusega hübriid S239D/I332E

■ negatiivne kontroll

FIG 23

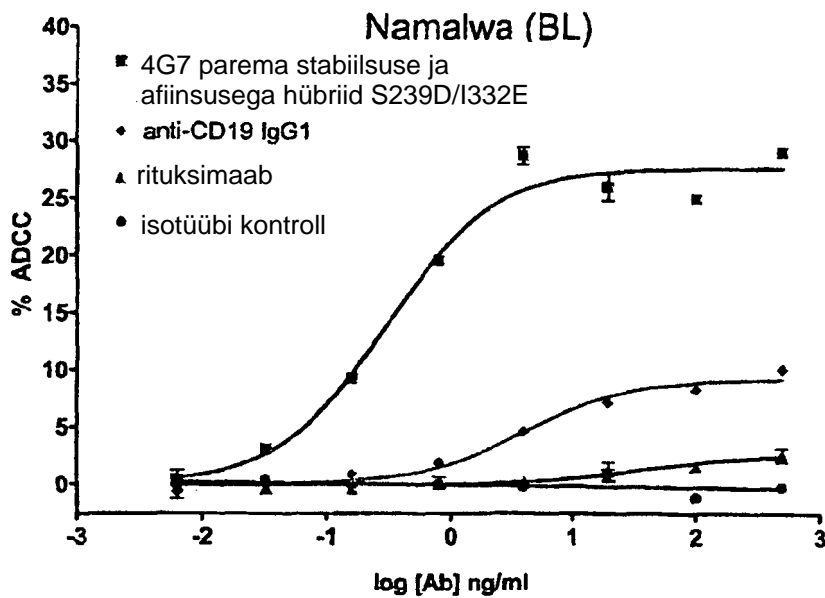
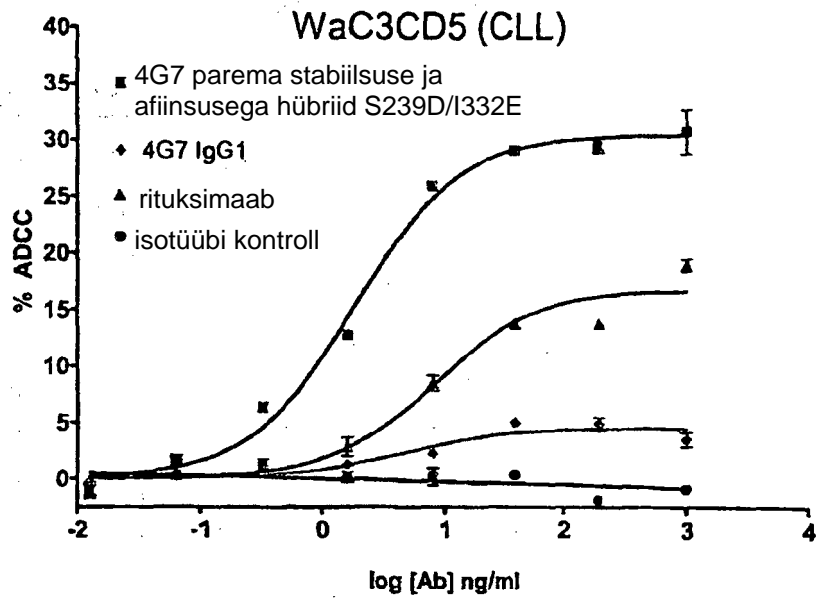
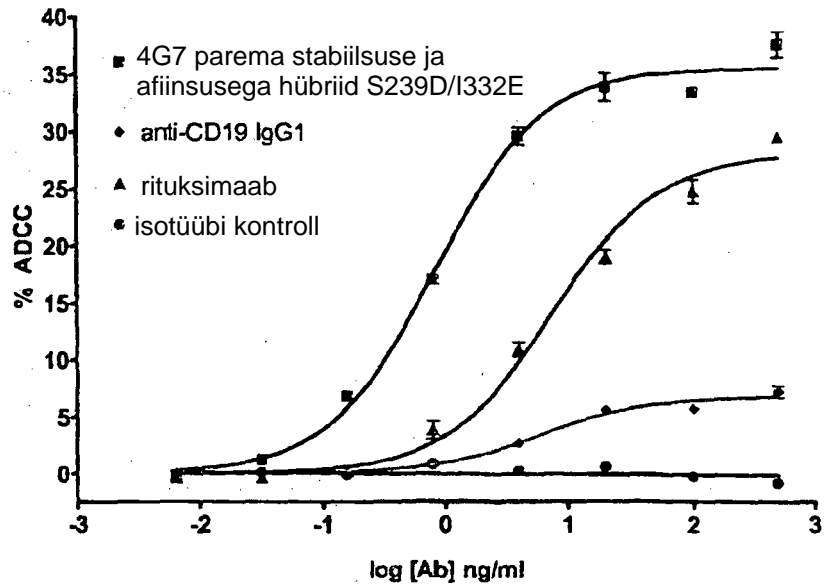


FIG 23 (järgneb)

Bonna-12 (HCL)



RS4;11 (ALL)

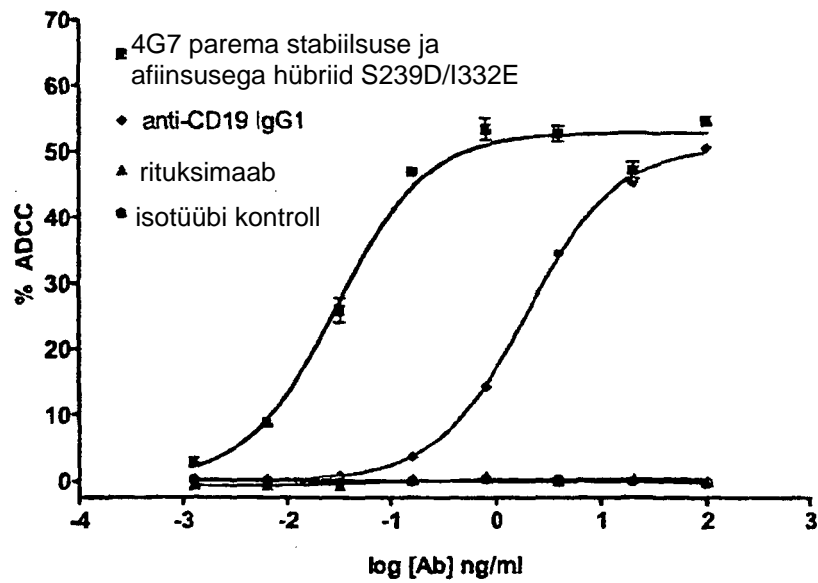
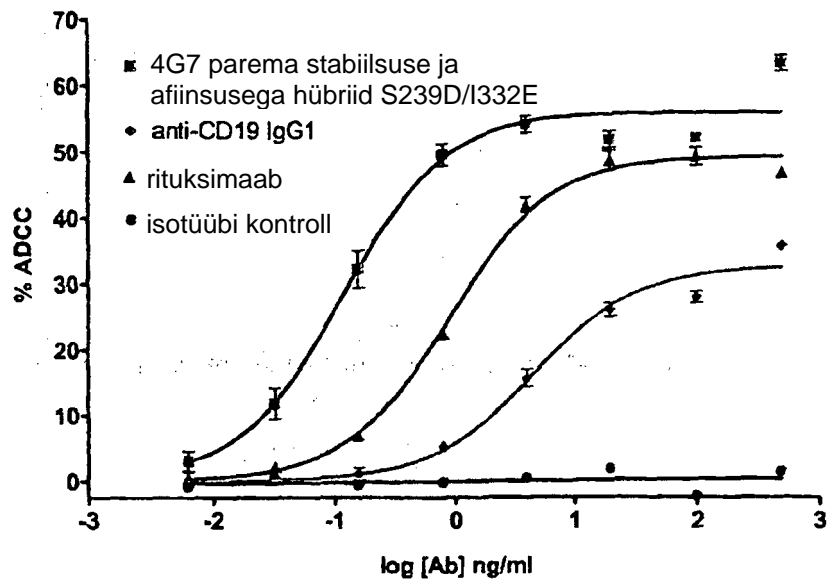


FIG 23 (järgneb)

Ramos (BL)



BV-173 (CML)

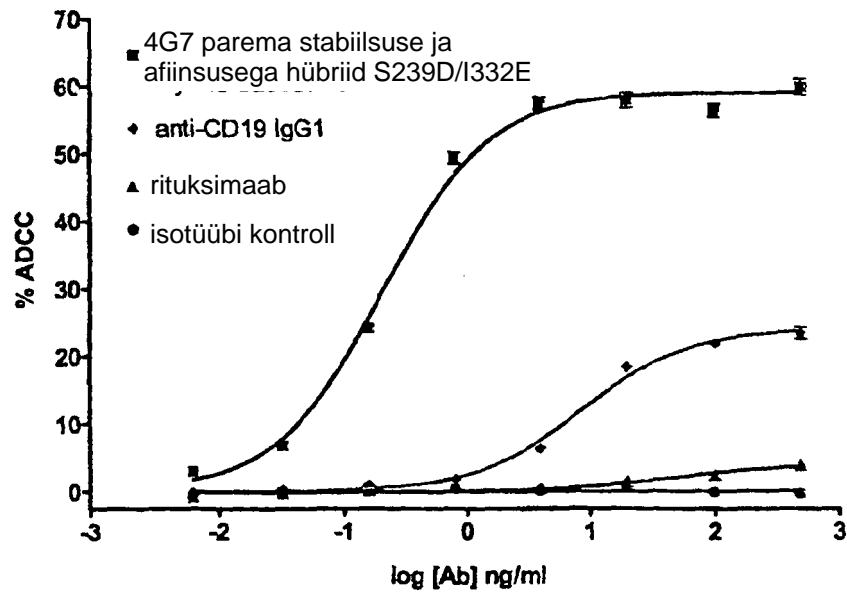


FIG 24

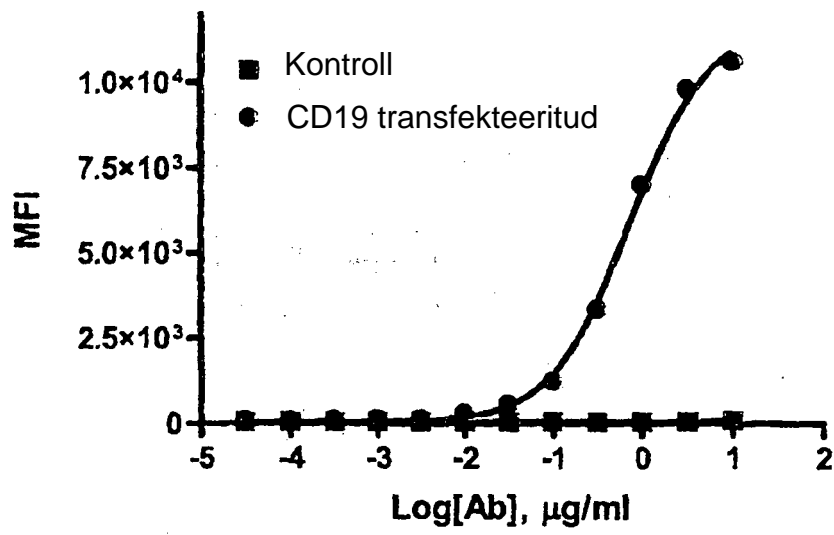


FIG 25a

Inimene

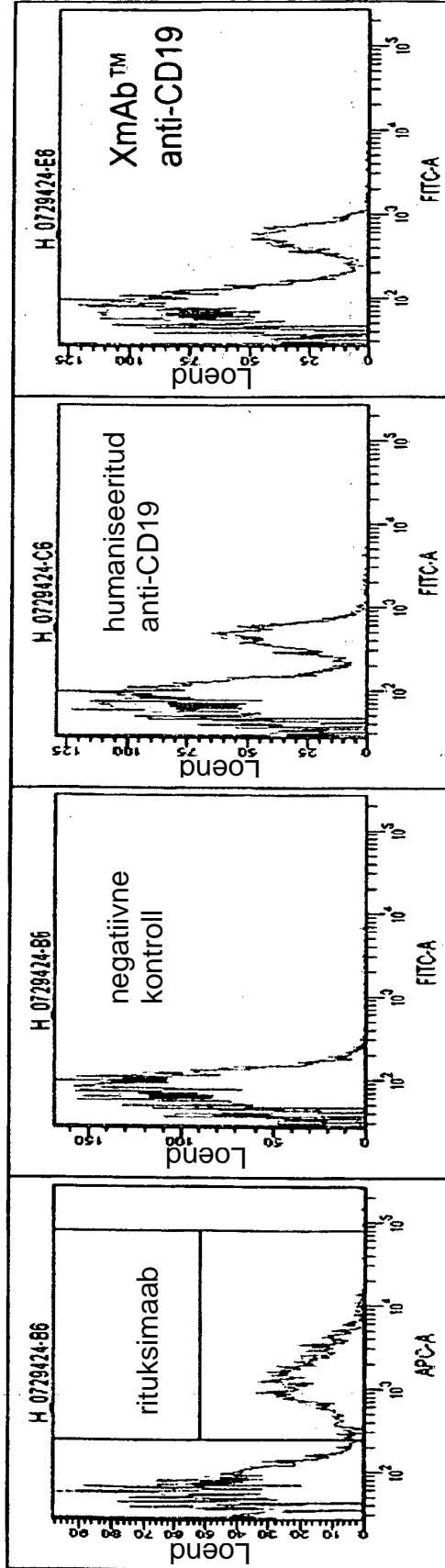
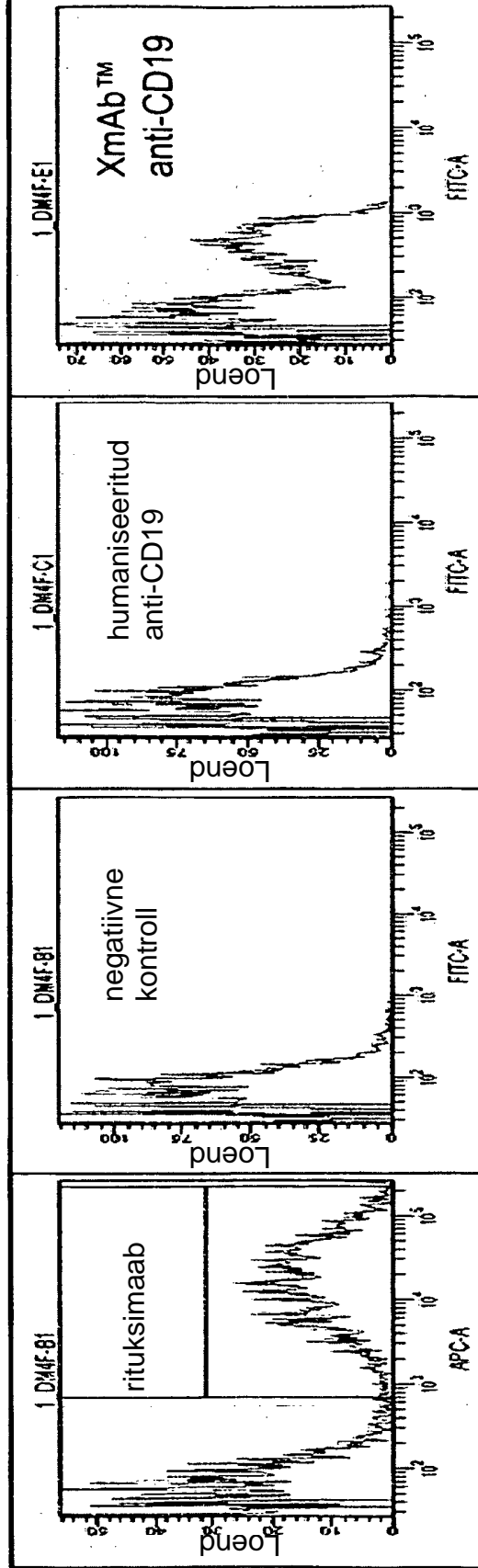


FIG 25b

Makaak *Macaca fascicularis*



Reesusahv

FIG 25C

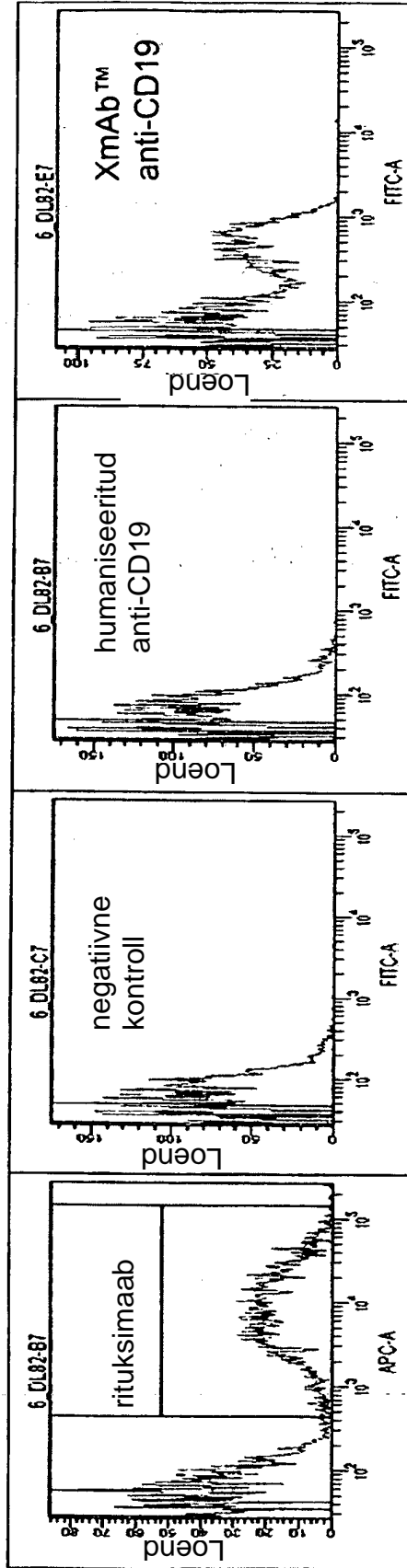
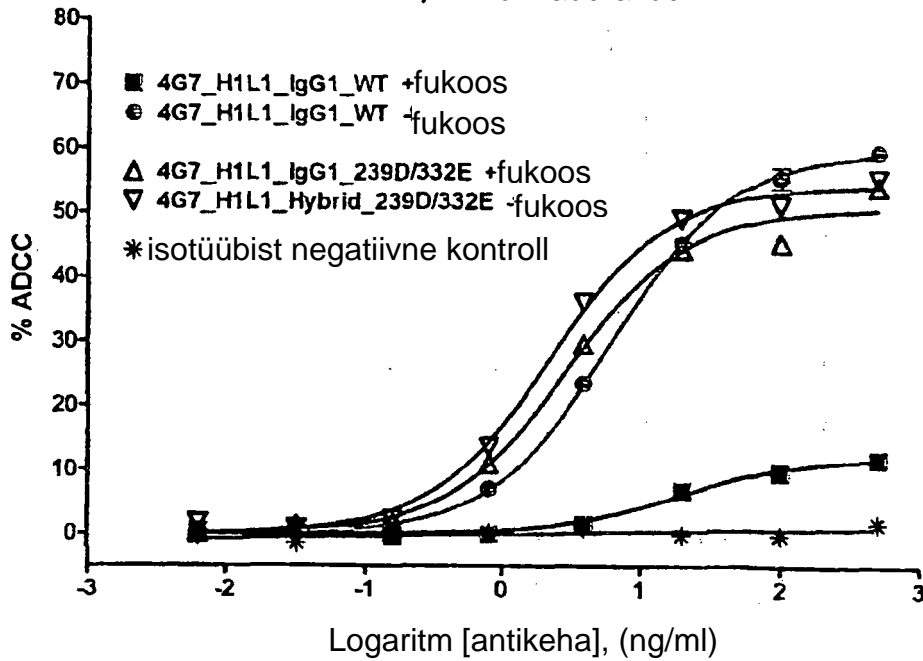


FIG 26

RS4;11 märklaudrakud



MEC-1 märklaudrakud

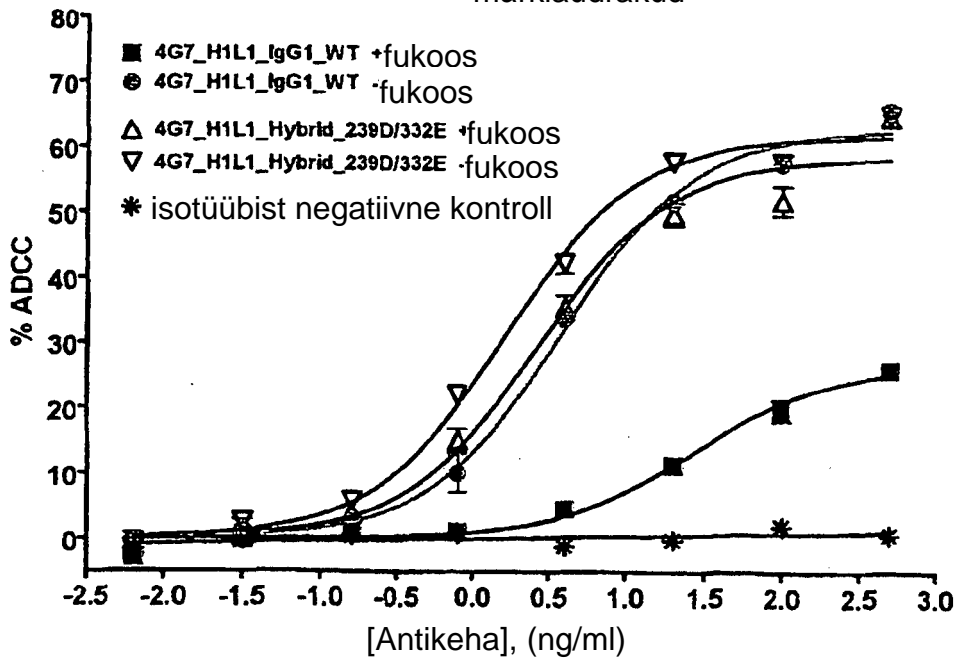


FIG 27b

		kerage ahel																
		CDR-L1																
Kabat		24	25	26	27	27a	27b	27c	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34
variandid	H1L1	R	S	S	K	S	L	L	N	S		N	G	N	T	Y	L	Y
					R	A		I	D	A		D	A	D	A	F		F
					Q	N		V	S	N		H	S	H	S	H		H
					E	T		P		T								P
					H	P		F		P								L
					S	Q		Y		Q								W
					D	G		W		G								V
					P	V		H		V								A
					T	H		S		H								N
					Y	E		K		E								Q
						K				K								T
						L				Y								K
						Y												

		CDR-L2							
Kabat		49	50	51	52	53	54	55	56
variandid	H1L1	Y	R	M	S	N	L	A	S
		F	K		A	D	V	G	A
		H	Q		N	S	I	V	T
		P			T	H	P	D	P
		L			P	E	F	L	Q
		W			Q	Q	Y	P	G
		V			G	P	W	H	N
		A			V	R	D	Q	V
		N			H	A	S	N	H
		Q			E	L	H	Y	E
		R			K	T	Q	K	K
					L	G	K		L
					Y	Y			Y

		CDR-L3										
Kabat		89	90	91	92	93	94	95	95a	95b	96	97
variandid	H1L1	M	Q	H	L	E	Y	P			F	T
				N	I	D	F				L	
				Y	V	Q	H				Y	
					P	N	P				W	
					F	K	L				I	
					Y	S	W				H	
					W	H	V				P	
					N	R	A				V	
					S	P	N				N	
					H	T	Q				A	
					Q	G	R				Q	
					K	Y					K	

FIG 28 (järgneb)

Variandid (Kabati nummerdus)

matrijs		raske ahel				kerge ahel				
raske ahel	kerge ahel	1	2	3	4	1	2	3	4	5
H1.153	L1	D101L								
H1.154	L1	D101T								
H1.155	L1	D101G								
H1.156	L1	D101Y								
H1.157	L1	Y34P								
H1.158	L1	Y34L								
H1.159	L1	Y34W								
H1.160	L1	Y34V								
H1.161	L1	Y34A								
H1.162	L1	Y34N								
H1.163	L1	Y34Q								
H1.164	L1	Y34K								
H1.165	L1	Y99P								
H1.166	L1	Y99L								
H1.167	L1	Y99W								
H1.168	L1	Y99V								
H1.169	L1	Y99A								
H1.170	L1	Y99S								
H1.171	L1	Y99Q								
H1.172	L1	Y99K								
H1.173	L1	G56E								
H1.174	L1	G56L								
H1.175	L1	G56Q								
H1.176	L1	G56H								
H1.177	L1	G56P								
H1.178	L1	G56V								
H1.179	L1	G56Y								
H1.180	L1	G56K								
H1.181	L1	Y102F								
H1.182	L1	Y102H								
H1.183	L1	Y102P								
H1.184	L1	Y102L								
H1.185	L1	Y102W								
H1.186	L1	Y102V								
H1.187	L1	Y102A								
H1.188	L1	Y102N								
H1.189	L1	Y102Q								
H1.190	L1	Y102K								
H1.191	L1	K58E	S100cT							
H1.192	L1	T57P	S100cT							
H1.193	L1	K58E	R100dS							
H1.194	L1	T57P	R100dS							
H1.195	L1	S100cT	R100dS							
H1.196	L1	T57P	S100cT	R100dS						
H1.198	L1	T57P	K58E	S100cT	R100dS					
H1.199	L1	T57P	K58E	S100cT						
H1.200	L1	T57P	K58E							

FIG 28 (järgneb)

Variandid (Kabati nummerdus)

matriits		raske ahel				kerge ahel				
raske ahel	kerge ahel	1	2	3	4	1	2	3	4	5
H1.99	L1	N54E								
H3.117	L1	P52aL								
H3.118	L1	P52aI								
H3.119	L1	P52aT								
H3.120	L1	P52aV								
H3.121	L1	P52aY								
H3.122	L1	P52aQ								
H3.123	L1	P52aN								
H3.124	L1	P52aH								
H3.125	L1	P52aG								
H3.126	L1	P52aF								
H3.127	L1	P52aK								
H1	L1.1					S52T				
H1	L1.10					S52Y				
H1	L1.100					S56P				
H1	L1.101					S56Q				
H1	L1.102					S56G				
H1	L1.103					S56N				
H1	L1.104					S56V				
H1	L1.105					S56H				
H1	L1.106					S56E				
H1	L1.107					S56K				
H1	L1.108					S56L				
H1	L1.109					S56Y				
H1	L1.11					E93N				
H1	L1.110					S27aT				
H1	L1.111					S27aP				
H1	L1.112					S27aQ				
H1	L1.113					S27aG				
H1	L1.114					S27aV				
H1	L1.115					S27aH				
H1	L1.116					S27aE				
H1	L1.117					S27aK				
H1	L1.118					S27aL				
H1	L1.119					S27aY				
H1	L1.12					E93K				
H1	L1.120					L54I				
H1	L1.121					L54P				
H1	L1.122					L54F				
H1	L1.123					L54Y				
H1	L1.124					L54W				
H1	L1.125					L54D				
H1	L1.126					L54S				
H1	L1.127					L54H				
H1	L1.128					L54Q				
H1	L1.129					L54K				
H1	L1.13					E93S				

FIG 28 (järgneb)

Variandid (Kabati nummerdus)

matriits		raske ahel				kerge ahel				
raske ahel	kerge ahel	1	2	3	4	1	2	3	4	5
H1	L1.130					Y49P				
H1	L1.131					Y49L				
H1	L1.132					Y49W				
H1	L1.133					Y49V				
H1	L1.134					Y49A				
H1	L1.135					Y49N				
H1	L1.136					Y49Q				
H1	L1.137					Y49R				
H1	L1.138					S27eV	A55N			
H1.109	L1.138	T57P				S27eV	A55N			
H1.191	L1.138	K58E	S100cT			S27eV	A55N			
H1.192	L1.138	T57P	S100cT			S27eV	A55N			
H1.195	L1.138	S100cT	R100dS			S27eV	A55N			
H1.196	L1.138	T57P	S100cT	R100dS		S27eV	A55N			
H1.198	L1.138	T57P	K58E	S100cT	R100dS	S27eV	A55N			
H1.199	L1.138	T57P	K58E	S100cT		S27eV	A55N			
H1.52	L1.138	S100cT				S27eV	A55N			
H1	L1.139					S27eV	F96N			
H1.109	L1.139	T57P				S27eV	F96N			
H1.191	L1.139	K58E	S100cT			S27eV	F96N			
H1.192	L1.139	T57P	S100cT			S27eV	F96N			
H1.193	L1.139	K58E	R100dS			S27eV	F96N			
H1.194	L1.139	T57P	R100dS			S27eV	F96N			
H1.195	L1.139	S100cT	R100dS			S27eV	F96N			
H1.196	L1.139	T57P	S100cT	R100dS		S27eV	F96N			
H1.198	L1.139	T57P	K58E	S100cT	R100dS	S27eV	F96N			
H1.199	L1.139	T57P	K58E	S100cT		S27eV	F96N			
H1.52	L1.139	S100cT				S27eV	F96N			
H1	L1.14					E93H				
H1	L1.140					S27eV	F96I			
H1.109	L1.140	T57P				S27eV	F96I			
H1.191	L1.140	K58E	S100cT			S27eV	F96I			
H1.192	L1.140	T57P	S100cT			S27eV	F96I			
H1.52	L1.140	S100cT				S27eV	F96I			
H1	L1.141					A55N	F96N			
H1.109	L1.141	T57P				A55N	F96N			
H1.191	L1.141	K58E	S100cT			A55N	F96N			
H1.192	L1.141	T57P	S100cT			A55N	F96N			
H1.193	L1.141	K58E	R100dS			A55N	F96N			
H1.194	L1.141	T57P	R100dS			A55N	F96N			
H1.195	L1.141	S100cT	R100dS			A55N	F96N			
H1.196	L1.141	T57P	S100cT	R100dS		A55N	F96N			
H1.198	L1.141	T57P	K58E	S100cT	R100dS	A55N	F96N			
H1.199	L1.141	T57P	K58E	S100cT		A55N	F96N			
H1.52	L1.141	S100cT				A55N	F96N			
H1	L1.142					A55N	F96I			
H1.109	L1.142	T57P				A55N	F96I			

FIG 28 (järgneb)

Variandid (Kabati nummerdus)

matriits		raške ahel				kerge ahel				
raske ahel	kerge ahel	1	2	3	4	1	2	3	4	5
H1.191	L1.142	K58E	S100cT			A55N	F96I			
H1.192	L1.142	T57P	S100cT			A55N	F96I			
H1.193	L1.142	K58E	R100dS			A55N	F96I			
H1.194	L1.142	T57P	R100dS			A55N	F96I			
H1.52	L1.142	S100cT				A55N	F96I			
H1	L1.143					L27cQ	A55N			
H1.109	L1.143	T57P				L27cQ	A55N			
H1.191	L1.143	K58E	S100cT			L27cQ	A55N			
H1.192	L1.143	T57P	S100cT			L27cQ	A55N			
H1.195	L1.143	S100cT	R100dS			L27cQ	A55N			
H1.196	L1.143	T57P	S100cT	R100dS		L27cQ	A55N			
H1.198	L1.143	T57P	K58E	S100cT	R100dS	L27cQ	A55N			
H1.199	L1.143	T57P	K58E	S100cT		L27cQ	A55N			
H1.52	L1.143	S100cT				L27cQ	A55N			
H1	L1.144					L27cQ	F96N			
H1.109	L1.144	T57P				L27cQ	F96N			
H1.191	L1.144	K58E	S100cT			L27cQ	F96N			
H1.192	L1.144	T57P	S100cT			L27cQ	F96N			
H1.193	L1.144	K58E	R100dS			L27cQ	F96N			
H1.194	L1.144	T57P	R100dS			L27cQ	F96N			
H1.195	L1.144	S100cT	R100dS			L27cQ	F96N			
H1.196	L1.144	T57P	S100cT	R100dS		L27cQ	F96N			
H1.198	L1.144	T57P	K58E	S100cT	R100dS	L27cQ	F96N			
H1.199	L1.144	T57P	K58E	S100cT		L27cQ	F96N			
H1.52	L1.144	S100cT				L27cQ	F96N			
H1	L1.145					L27cQ	F96I			
H1.109	L1.145	T57P				L27cQ	F96I			
H1.191	L1.145	K58E	S100cT			L27cQ	F96I			
H1.192	L1.145	T57P	S100cT			L27cQ	F96I			
H1.52	L1.145	S100cT				L27cQ	F96I			
H1	L1.146					S27eV	A55N	F96N		
H1.109	L1.146	T57P				S27eV	A55N	F96N		
H1.191	L1.146	K58E	S100cT			S27eV	A55N	F96N		
H1.192	L1.146	T57P	S100cT			S27eV	A55N	F96N		
H1.193	L1.146	K58E	R100dS			S27eV	A55N	F96N		
H1.184	L1.146	T57P	R100dS			S27eV	A55N	F96N		
H1.185	L1.146	S100cT	R100dS			S27eV	A55N	F96N		
H1.196	L1.146	T57P	S100cT	R100dS		S27eV	A55N	F96N		
H1.198	L1.146	T57P	K58E	S100cT	R100dS	S27eV	A55N	F96N		
H1.199	L1.146	T57P	K58E	S100cT		S27eV	A55N	F96N		
H1.52	L1.146	S100cT				S27eV	A55N	F96N		
H1	L1.147					S27eV	A55N	F96I		
H1.109	L1.147	T57P				S27eV	A55N	F96I		
H1.191	L1.147	K58E	S100cT			S27eV	A55N	F96I		
H1.192	L1.147	T57P	S100cT			S27eV	A55N	F96I		
H1.183	L1.147	K58E	R100dS			S27eV	A55N	F96I		
H1.184	L1.147	T57P	R100dS			S27eV	A55N	F96I		

FIG 28 (iärcneb)

Variandid (Kabati nummerdus)

matrijts		raske ahel				kerge ahel...				
raske ahel	kerge ahel	1	2	3	4	1	2	3	4	5
H1.52	L1.147	S100cT				S27eV	A55N	F96I		
H1	L1.148					L27cQ	A55N	F96N		
H1.109	L1.148	T57P				L27cQ	A55N	F96N		
H1.191	L1.148	K58E	S100cT			L27cQ	A55N	F96N		
H1.192	L1.148	T57P	S100cT			L27cQ	A55N	F96N		
H1.193	L1.148	K58E	R100dS			L27cQ	A55N	F96N		
H1.194	L1.148	T57P	R100dS			L27cQ	A55N	F96N		
H1.195	L1.148	S100cT	R100dS			L27cQ	A55N	F96N		
H1.196	L1.148	T57P	S100cT	R100dS		L27cQ	A55N	F96N		
H1.198	L1.148	T57P	K58E	S100cT	R100dS	L27cQ	A55N	F96N		
H1.199	L1.148	T57P	K58E	S100cT		L27cQ	A55N	F96N		
H1.52	L1.148	S100cT				L27cQ	A55N	F96N		
H1	L1.149					L27cQ	A55N	F96I		
H1.109	L1.149	T57P				L27cQ	A55N	F96I		
H1.191	L1.149	K58E	S100cT			L27cQ	A55N	F96I		
H1.192	L1.149	T57P	S100cT			L27cQ	A55N	F96I		
H1.193	L1.149	K58E	R100dS			L27cQ	A55N	F96I		
H1.194	L1.149	T57P	R100dS			L27cQ	A55N	F96I		
H1.52	L1.149	S100cT				L27cQ	A55N	F96I		
H1	L1.15					E93R				
H1	L1.150					L27cQ	S27eV			
H1	L1.151					L27cQ	S27eV	A55N		
H1.192	L1.151	T57P	S100cT			L27cQ	S27eV	A55N		
H1.195	L1.151	S100cT	R100dS			L27cQ	S27eV	A55N		
H1.196	L1.151	T57P	S100cT	R100dS		L27cQ	S27eV	A55N		
H1.198	L1.151	T57P	K58E	S100cT	R100dS	L27cQ	S27eV	A55N		
H1.199	L1.151	T57P	K58E	S100cT		L27cQ	S27eV	A55N		
H1.52	L1.151	S100cT				L27cQ	S27eV	A55N		
H1	L1.152					L27cQ	S27eV	F96N		
H1.192	L1.152	T57P	S100cT			L27cQ	S27eV	F96N		
H1.195	L1.152	S100cT	R100dS			L27cQ	S27eV	F96N		
H1.196	L1.152	T57P	S100cT	R100dS		L27cQ	S27eV	F96N		
H1.198	L1.152	T57P	K58E	S100cT	R100dS	L27cQ	S27eV	F96N		
H1.199	L1.152	T57P	K58E	S100cT		L27cQ	S27eV	F96N		
H1.52	L1.152	S100cT				L27cQ	S27eV	F96N		
H1	L1.153					L27cQ	S27eV	F96I		
H1	L1.154					L27cQ	S27eV	A55N	F96N	
H1.192	L1.154	T57P	S100cT			L27cQ	S27eV	A55N	F96N	
H1.195	L1.154	S100cT	R100dS			L27cQ	S27eV	A55N	F96N	
H1.196	L1.154	T57P	S100cT	R100dS		L27cQ	S27eV	A55N	F96N	
H1.198	L1.154	T57P	K58E	S100cT	R100dS	L27cQ	S27eV	A55N	F96N	
H1.199	L1.154	T57P	K58E	S100cT		L27cQ	S27eV	A55N	F96N	
H1.52	L1.154	S100cT				L27cQ	S27eV	A55N	F96N	
H1	L1.155					L27cQ	S27eV	A55N	F96I	
H1.191	L1.155	K58E	S100cT			L27cQ	S27eV	A55N	F96I	
H1.201	L1.155	D55S	S100cT			L27cQ	S27eV	A55N	F96I	
H1.203	L1.155	D55S	K58E	S100cT		L27cQ	S27eV	A55N	F96I	

FIG 28 (järgneb)

Variandid (Kabati nummerdus)

matriits		raske ahel				kerge ahel				
raske ahel	kerge ahel	1	2	3	4	1	2	3	4	5
H1.52	L1.32	S100cT				S27eV				
H1	L1.33					S27eH				
H1	L1.34					S27eE				
H1	L1.35					S27eK				
H1	L1.36					S27eY				
H1	L1.37					L92P				
H1	L1.38					L92F				
H1	L1.39					L92Y				
H1	L1.4					S52G				
H1	L1.40					L92W				
H1	L1.41					L92N				
H1	L1.42					L92S				
H1	L1.43					L92H				
H1	L1.44					L92Q				
H1	L1.45					L92K				
H1	L1.46					N53H				
H1	L1.47					N53E				
H1	L1.48					N53Q				
H1	L1.49					N53P				
H1	L1.5					S52V				
H1	L1.50					N53R				
H1	L1.51					N53A				
H1	L1.52					N53L				
H1	L1.53					N53T				
H1	L1.54					N53G				
H1	L1.55					N53Y				
H1	L1.56					K27E				
H1	L1.57					K27H				
H1	L1.58					K27S				
H1	L1.59					K27D				
H1	L1.6					S52H				
H1	L1.60					K27P				
H1	L1.61					K27T				
H1	L1.62					K27Y				
H1	L1.63					F96W				
H1	L1.64					F96I				
H1.191	L1.64	K58E	S100cT			F96I				
H1.192	L1.64	T57P	S100cT			F96I				
H1	L1.65					F96H				
H1	L1.66					F96P				
H1	L1.67					F96V				
H1	L1.68					F96N				
H1.109	L1.68	T57P								
H1.191	L1.68	K58E	S100cT			F96N				
H1.192	L1.68	T57P	S100cT			F96N				
H1.195	L1.68	S100cT	R100dS			F96N				
H1.196	L1.68	T57P	S100cT	R100dS		F96N				

FIG 28 (järgneb)

Variandid (Kabati nummerdus)

matriits		raske ahel				kerge ahel				
raske ahel	kerge ahel	1	2	3	4	1	2	3	4	5
H1.198	L1.68	T57P	K58E	S100cT	R100dS	F96N				
H1.199	L1.68	T57P	K58E	S100cT		F96N				
H1.52	L1.68	S100cT				F96N				
H1	L1.69					F96A				
H1	L1.7					S52E				
H1	L1.70					F96Q				
H1	L1.71					F96K				
H1	L1.72					Y94P				
H1	L1.73					Y94L				
H1	L1.74					Y94W				
H1	L1.75					Y94V				
H1	L1.76					Y94A				
H1	L1.77					Y94N				
H1	L1.78					Y94Q				
H1	L1.79					Y94R				
H1	L1.8					S52K				
H1	L1.80					Y34F				
H1	L1.81					Y34H				
H1	L1.82					Y34P				
H1	L1.83					Y34L				
H1	L1.84					Y34W				
H1	L1.85					Y34V				
H1	L1.86					Y34A				
H1	L1.87					Y34N				
H1	L1.88					Y34Q				
H1	L1.89					Y34T				
H1	L1.9					S52L				
H1	L1.90					Y34K				
H1	L1.91					A55D				
H1	L1.92					A55L				
H1	L1.93					A55P				
H1	L1.94					A55H				
H1	L1.95					A55Q				
H1	L1.96					A55N				
H1.191	L1.96	K58E	S100cT			A55N				
H1.192	L1.96	T57P	S100cT			A55N				
H1.198	L1.96	T57P	K58E	S100cT	R100dS	A55N				
H1.199	L1.96	T57P	K58E	S100cT		A55N				
H1	L1.97					A55Y				
H1	L1.98					A55K				
H1	L1.99					S56T				
H3	L2.1					K27R				
H3	L2.10					S27eN				
H3	L2.11					N28D				
H3	L2.12					N28H				
H3	L2.13					G39A				
H3	L2.14					G39S				

FIG 28 (järgneb)

Variandid (Kabati nummerdus)

matriits		raske ahel				kerge ahel				
raske ahel	kerge ahel	1	2	3	4	1	2	3	4	5
H3	L2.15					N30D				
H3	L2.16					N30H				
H3	L2.17					T31A				
H3	L2.18					T31S				
H3	L2.19					Y32F				
H3	L2.2					K27Q				
H3	L2.20					Y32H				
H3	L2.21					Y34F				
H3	L2.22					Y49F				
H3	L2.23					Y49H				
H3	L2.24					R50K				
H3	L2.25					R50Q				
H3	L2.26					S52A				
H3	L2.27					S52N				
H3	L2.28					N53D				
H3	L2.29					N53S				
H3	L2.3					S27aA				
H3	L2.30					L54V				
H3	L2.31					A55G				
H3	L2.32					A55V				
H3	L2.33					S56A				
H3	L2.34					H91N				
H3	L2.35					N91Y				
H3	L2.36					L92I				
H3	L2.37					L92V				
H3	L2.38					E93D				
H3	L2.39					E93Q				
H3	L2.4					S27aN				
H3	L2.40					Y94F				
H3	L2.41					Y94H				
H3	L2.42					F96L				
H3	L2.43					F96Y				
H3	L2.5					L27cl				
H3	L2.6					L27cV				
H3	L2.7					N27dD				
H3	L2.8					N27dS				
H3	L2.9					S27eA				

FIG 29

Variandid (Kabati nummerdus)

matriits		raske ahel				kerge ahel					seondumisvõimaluse kordsus
raske ahel	kerge ahel	1	2	3	4	1	2	3	4	5	
H1.109	L1	T57P									1.52
H1.113	L1	T57H									1.29
H1.144	L1	D101N									2.26
H1.146	L1	D101H									2.45
H1.147	L1	D101S									2.65
H1.196	L1	T57P	S100cT	R100dS							3.42
H1.52	L1	S100cT									3.22
H1.60	L1	S100cL									1.56
H1.62	L1	R100dE									1.65
H1.65	L1	R100dS									1.41
H1.78	L1	D55A									1.14
H1	L1.11					E93N					1.59
H1	L1.124					L54W					1.47
H1.52	L1.138	S100cT				S27eV	A55N				3.93
H1.199	L1.139	T57P	K58E	S100cT		S27eV	F96N				2.36
H1.52	L1.139	S100cT				S27eV	F96N				1.80
H1.192	L1.141	T57P	S100cT			A55N	F96N				2.57
H1.199	L1.141	T57P	K58E	S100cT		A55N	F96N				4.02
H1.52	L1.143	S100cT				L27cQ	A55N				3.83
H1.192	L1.144	T57P	S100cT			L27cQ	F96N				3.63
H1.52	L1.145	S100cT				L27cQ	F96I				6.41
H1.192	L1.146	T57P	S100cT			S27eV	A55N	F96N			3.19
H1.196	L1.146	T57P	S100cT	R100dS		S27eV	A55N	F96N			3.57
H1.199	L1.146	T57P	K58E	S100cT		S27eV	A55N	F96N			4.11
H1.192	L1.148	T57P	S100cT			L27cQ	A55N	F96N			4.63
H1.199	L1.148	T57P	K58E	S100cT		L27cQ	A55N	F96N			4.34
H1.191	L1.149	K58E	S100cT			L27cQ	A55N	F96I			6.02
H1.52	L1.149	S100cT				L27cQ	A55N	F96I			8.60
H1.192	L1.152	T57P	S100cT			L27cQ	S27eV	F96N			2.98
H1.196	L1.152	T57P	S100cT	R100dS		L27cQ	S27eV	F96N			4.36
H1.199	L1.152	T57P	K58E	S100cT		L27cQ	S27eV	F96N			3.55
H1.192	L1.154	T57P	S100cT			L27cQ	S27eV	A55N	F96N		5.12
H1.196	L1.154	T57P	S100cT	R100dS		L27cQ	S27eV	A55N	F96N		4.44
H1.191	L1.155	K58E	S100cT			L27cQ	S27eV	A55N	F96I		4.56
H1.201	L1.155	D55S	S100cT			L27cQ	S27eV	A55N	F96I		4.48
H1.203	L1.155	D55S	K58E	S100cT		L27cQ	S27eV	A55N	F96I		4.73
H1.52	L1.155	S100cT				L27cQ	S27eV	A55N	F96I		6.16
H1.191	L1.160	K58E	S100cT			L27cQ	S27eV	G29A	A55N	F96I	2.91
H1.201	L1.160	D55S	S100cT			L27cQ	S27eV	G29A	A55N	F96I	4.51
H1.202	L1.160	D55E	S100cT			L27cQ	S27eV	G29A	A55N	F96I	3.96
H1.203	L1.160	D55S	K58E	S100cT		L27cQ	S27eV	G29A	A55N	F96I	1.76
H1.204	L1.160	D55E	K58E	S100cT		L27cQ	S27eV	G29A	A55N	F96I	3.46
H1.52	L1.160	S100cT				L27cQ	S27eV	G29A	A55N	F96I	4.18
H1.191	L1.161	K58E	S100cT			L27cQ	S27eV	G29S	A55N	F96I	3.97
H1.201	L1.161	D55S	S100cT			L27cQ	S27eV	G29S	A55N	F96I	3.89
H1.202	L1.161	D55E	S100cT			L27cQ	S27eV	G29S	A55N	F96I	4.30
H1.203	L1.161	D55S	K58E	S100cT		L27cQ	S27eV	G29S	A55N	F96I	2.92

FIG 29 (järgneb)

Variandid (Kabati nummerdus)

matriits		raske ahel				kerge ahel					seondumisvõimaluse
raske ahel	kerge ahel	1	2	3	4	1	2	3	4	5	knrdsus
H1.204	L1.161	D55E	K58E	S100cT		L27cQ	S27eV	G29S	A55N	F96I	3.27
H1.52	L1.161	S100cT				L27cQ	S27eV	G29S	A55N	F96I	3.18
H1.191	L1.162	K58E	S100cT			L27cQ	S27eA	G29A	A55N	F96I	3.35
H1.201	L1.162	D55S	S100cT			L27cQ	S27eA	G29A	A55N	F96I	3.97
H1.202	L1.162	D55E	S100cT			L27cQ	S27eA	G29A	A55N	F96I	4.32
H1.203	L1.162	D55S	K58E	S100cT		L27cQ	S27eA	G29A	A55N	F96I	3.25
H1.204	L1.162	D55E	K58E	S100cT		L27cQ	S27eA	G29A	A55N	F96I	4.07
H1.52	L1.162	S100cT				L27cQ	S27eA	G29A	A55N	F96I	5.57
H1.191	L1.163	K58E	S100cT			L27cQ	S27eA	G29S	A55N	F96I	5.32
H1.201	L1.163	D55S	S100cT			L27cQ	S27eA	G29S	A55N	F96I	3.87
H1.202	L1.163	D55E	S100cT			L27cQ	S27eA	G29S	A55N	F96I	3.57
H1.203	L1.163	D55S	K58E	S100cT		L27cQ	S27eA	G29S	A55N	F96I	3.20
H1.204	L1.163	D55E	K58E	S100cT		L27cQ	S27eA	G29S	A55N	F96I	4.73
H1.52	L1.163	S100cT				L27cQ	S27eA	G29S	A55N	F96I	3.74
H1.201	L1.164	D55S	S100cT			L27cQ	S27eA	A55N	F96I		4.41
H1.203	L1.164	D55S	K58E	S100cT		L27cQ	S27eA	A55N	F96I		5.58
H1	L1.17					E93T					1.57
H1	L1.19					E93Y					1.76
H1	L1.26					L27cQ					1.73
H1	L1.3					S52Q					1.85
H1	L1.32					S27eV					2.61
H1	L1.46					N53H					1.75
H1	L1.54					N53G					1.50
H1	L1.55					N53Y					1.58
H1	L1.64					F96I					1.80
H1	L1.67					F96V					1.73
H1	L1.68					F96N					2.12
H1	L1.8					S52K					2.18
H1	L1.80					Y34F					1.62
H1	L1.9					S52L					1.84
H1	L1.92					A55L					1.54
H1	L1.96					A55N					1.58

FIG 30a

Puhastatud B-rakkude proliferatsioon erinevatel anti-müü antikeha kontsentratsioonidel 3 päeva möödudes

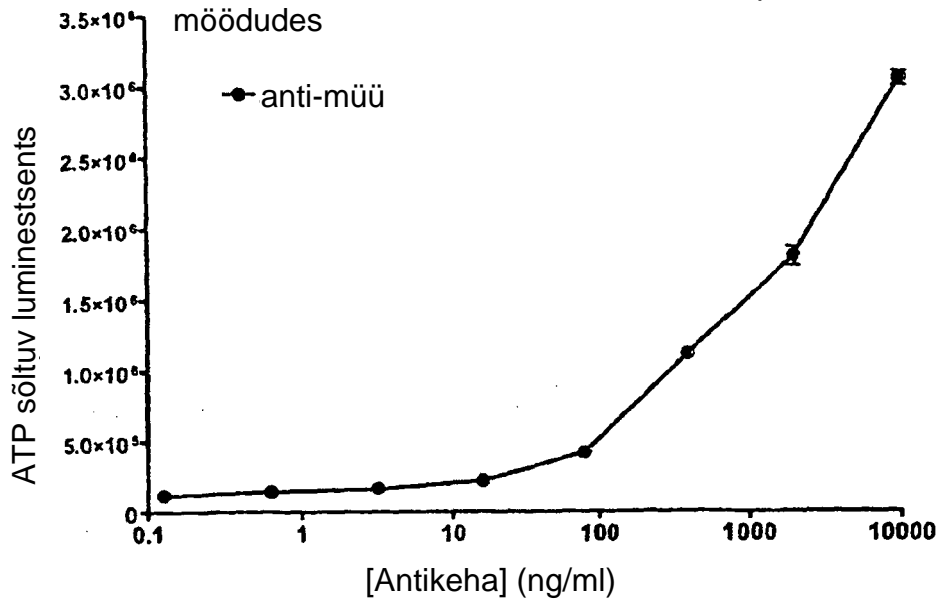
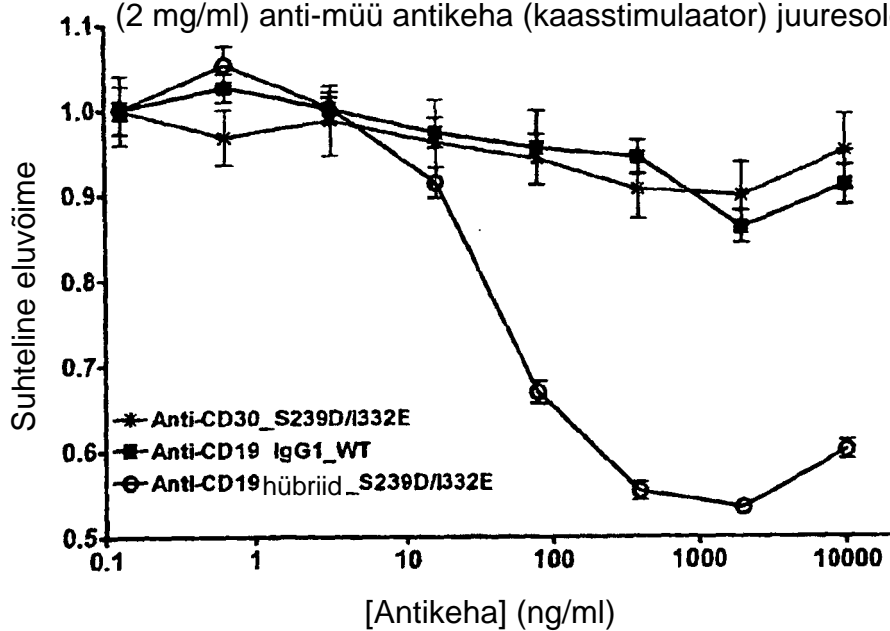


FIG 30b

Puhastatud B-rakkude eluvõime anti-CD19 antikehade ja fikseeritud (2 mg/ml) anti-müü antikeha (kaasstimulaator) juuresolekul



Järjestuse loetelu

<110> XENCOR, INC.

<120> CD19 suunatud optimeeritud antikehad

<130> T2329 EP/1 S3

<140> PCT/US2007/075932

<141> 2007-08-14

<150> US 60/822,362

<151> 2006-08-14

<160> 146

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 556

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met
 1 5 10 15

Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp
 20 25 30

Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Lys Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln
 35 40 45

Gln Leu Thr Trp Ser Arg Glu Ser Pro Leu Lys Pro Phe Leu Lys Leu
 50 55 60

Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile
 65 70 75 80

Trp Leu Phe Ile Phe Asn Val Ser Gln Gln Met Gly Gly Phe Tyr Leu
 85 90 95

Cys Gln Pro Gly Pro Pro Ser Glu Lys Ala Trp Gln Pro Gly Trp Thr
 100 105 110

Val Asn Val Glu Gly Ser Gly Glu Leu Phe Arg Trp Asn Val Ser Asp
 115 120 125

Leu Gly Gly Leu Gly Cys Gly Leu Lys Asn Arg Ser Ser Glu Gly Pro
 130 135 140

Ser Ser Pro Ser Gly Lys Leu Met Ser Pro Lys Leu Tyr Val Trp Ala
 145 150 155 160

Lys Asp Arg Pro Glu Ile Trp Glu Gly Glu Pro Pro Cys Leu Pro Pro
 165 170 175

Arg Asp Ser Leu Asn Gln Ser Leu Ser Gln Asp Leu Thr Met Ala Pro
 180 185 190

Gly Ser Thr Leu Trp Leu Ser Cys Gly Val Pro Pro Asp Ser Val Ser
 195 200 205

Arg Gly Pro Leu Ser Trp Thr His Val His Pro Lys Gly Pro Lys Ser
 210 215 220

Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp
 225 230 235 240

Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala
 245 250 255

Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu
 260 265 270

Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly
 275 280 285

Gly Trp Lys Val Ser Ala Val Thr Leu Ala Tyr Leu Ile Phe Cys Leu
 290 295 300

Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg
 305 310 315 320

Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val
 325 330 335

Thr Pro Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val Leu
 340 345 350

Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala
 355 360 365

Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp
 370 375 380

Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 3

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
 165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
 180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
 195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325

<210> 5

<211> 377

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro
 100 105 110

Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg
 115 120 125

Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys
 130 135 140

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
 145 150 155 160

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
165 170 175

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
180 185 190

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
195 200 205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
210 215 220

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225 230 235 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
245 250 255

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
260 265 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305 310 315 320

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
325 330 335

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 6
<211> 327
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<211> 330
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hybrid constant heavy chain (CH) with 239D and 332E substitutions

<400> 8

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 9
<211> 121
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 9

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Ile Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 10
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 10

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

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

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

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

Leu Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105 110

<210> 11
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 11

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

15

35

40

45

Gly Gln Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Glu Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp
 100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 12
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 12

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
 20 25 30

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

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

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

Pro Val Glu Lys Val Asp Ala Ala Thr Tyr His Cys Gln Gln Ser Thr
 85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 13
 <211> 121
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> H1 4G7

<400> 13

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 14

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> H2 4G7

<400> 14

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ser Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

17

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 15
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> H3 4G7

<400> 15

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ser Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 16
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> H4 4G7

<400> 16

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
 35 40 45

Ser Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Ser Leu
 50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala 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 Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 17
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> L1 4G7

<400> 17

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

19

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

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

<220>
 <223> L2 4G7

<400> 18

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

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

--Leu Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 19
 <211> 112
 <212> PRT

20

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> L3 4G7

<400> 19

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

Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 20

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> H1 HD37

<400> 20

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Gln Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe
 50 55 60

21

Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 21
<211> 124
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> H2 HD37

<400> 21

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Glu Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gln Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 22
<211> 124
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> H3 HD37

<400> 22

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gln Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Ala Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 23

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> H4 HD37

<400> 23

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

23

Ala Gln Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 24
<211> 111
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> L1 HD37

<400> 24

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30

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

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

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

Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr His Cys Gln Gln Ser Thr
85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 25
<211> 111
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> L2 HD37

<400> 25

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30

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

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

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

Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr His Cys Gln Gln Ser Thr
85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 26

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> L3 HD37

<400> 26

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30

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

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

25

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

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

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 27
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 4G7 H1.109

<400> 27

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Pro Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 28
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 4G7 H1.113

<400> 28

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly His Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 29

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 H1.144

<400> 29

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

27

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Val Phe Asn Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 30

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 H1.146

<400> 30

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Val Phe His Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 31

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 H1.147

<400> 31

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Val Phe Ser Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 32

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 H1.191

<400> 32

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

29

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 33
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 4G7 H1.192

<400> 33

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Pro Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 34
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 H1.196

<400> 34

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Pro Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 35
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 H1.199

<400> 35

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Pro Glu Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 36
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 H1.201

<400> 36

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Ser Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 37
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 H1.202

<400> 37

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Glu Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 38
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 H1.203

<400> 38

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

33

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Ser Gly Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 39
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 H1.204
 <400> 39

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Glu Gly Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 40
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 H1.52

<400> 40

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 41
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 H1.60

<400> 41

35

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 42
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 H1.62

<400> 42

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

<223> 4G7 H1.78

<400> 44

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Ala Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 45

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.11

<400> 45

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95

Leu Asn Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 46
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 4G7 L1.124

<400> 46

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95

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

<210> 47
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 4G7 L1.138

<400> 47

39

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Val
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 48

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.139

<400> 48

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Val
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Asn Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 49
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.141

<400> 49

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Asn Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 50
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.143

<400> 50

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ser
 20 25 30

41

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 51
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.144

<400> 51

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Asn Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 52
 <211> 112
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.145

<400> 52

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95

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

<210> 53

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.146

<400> 53

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Val
20 25 30

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

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

43

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Asn Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 54
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 4G7 L1.148

<400> 54

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Asn Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 55
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 4G7 L1.149

<400> 55

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

45

Leu Glu Tyr Pro Asn Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 57
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.154

<400> 57

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Asn Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 58
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.155

<400> 58

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser

46

35

40

45

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 59
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.160

<400> 59

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 60
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.161

<400> 60

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 61

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.162

<400> 61

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ala
 20 25 30

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

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ala
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 64

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.17

<400> 64

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

Leu Thr Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

50

100

105

110

<210> 65
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.19

<400> 65

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 66
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.26

<400> 66

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 67
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.3

<400> 67

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 68
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.32

<400> 68

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Val
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 69

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.46

<400> 69

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 70
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.54

<400> 70

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 71
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.55

<400> 71

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 72

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.64

<400> 72

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 73
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.67

<400> 73

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 74
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.68

<400> 74

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

~~Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser~~
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Asn Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 75

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.8

<400> 75

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 76

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

57

<223> 4G7 L1.80

<400> 76

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 77

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.9

<400> 77

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 78

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.92

<400> 78

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 79

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.96

<400> 79

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

59

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

<210> 80

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 80

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 81
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 81

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245

250

255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 82
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 82

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 83

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 84
 <211> 326
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 84

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 115 120 125

66

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 85

<211> 326

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 145 150 155 160

Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
 165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
 180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
 195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325

<210> 86
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 H1 Hybrid S239D/I332E

<400> 86

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

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

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

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

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 87

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 H1.52 Hybrid S239D/I332E

<400> 87

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

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

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

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

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys
 450

<210> 88
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 H1.78 Hybrid S239D/I332E

<400> 88

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Ala Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

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

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

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

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys
 450

<210> 89
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 H1.191 Hybrid S239D/I332E

<400> 89

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

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

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys
 450

<210> 90

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 H1.192 Hybrid S239D/I332E

<400> 90

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Pro Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

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

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

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

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys
 450

<210> 91
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 H1.196 Hybrid S239D/I332E

<400> 91

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Pro Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

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

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

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

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys
 450

<210> 92

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 H1.201 Hybrid S239D/I332E

<400> 92

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Ser Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

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

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

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

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys
 450

<210> 93
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220> --
 <223> 4G7 H1.202 Hybrid S239D/I332E

<400> 93

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Glu Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

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

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

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

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys
 450

<210> 94

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 H1.203 Hybrid S239D/I332E

<400> 94

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

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

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

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys
 450

<210> 95
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 H1.204 Hybrid S239D/I332E

<400> 95

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Glu Gly Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

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

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

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

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys
 450

<210> 96
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1

<400> 96

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

---Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 97
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.26

<400> 97

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 98
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.32

<400> 98

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Val
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165

170

175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 99

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 L1.64

<400> 99

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 100
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.68

<400> 100

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Asn Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 101
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.96

<400> 101

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 102
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.145

<400> 102

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His

85

90

95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 103
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.148

<400> 103

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Asn Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 104
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 4G7 L1.149

<400> 104

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 105
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 4G7 L1.154

<400> 105

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val
20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Asn Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 106
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.155

<400> 106

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

100

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

<210> 107
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>

101

<223> 4G7 L1.160

<400> 107

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 108

<211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.162

<400> 108

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ala
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

103

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 109
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.163

<400> 109

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ala
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 110
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 L1.164

<400> 110

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ala
 20 25 30

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 111
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 VH CDR2 D55A

<400> 111

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Ala Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 112
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 VH CDR2 T57P

<400> 112

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Pro Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 113
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 VH CDR2 K58E

<400> 113

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

<220>

<223> 4G7 VH CDR3 R100dS

<400> 117

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

<210> 118

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 VH CDR3 S100cT/R100dS

<400> 118

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

<210> 119

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 VL CDR1 L27cQ

<400> 119

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 120

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 VL CDR1 L27cQ/S27eV

<400> 120

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 121

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 VL CDR1 S27eV

<400> 121

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Val Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 122
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 4G7 VL CDR1 G29A

<400> 122

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser Asn Ala Asn Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 123
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 4G7 VL CDR1 L27cQ/S27eV/G29A

<400> 123

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val Asn Ala Asn Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 124
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 4G7 VL CDR1 S27eA

<400> 124

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ala Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 125
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 4G7 VL CDR1 L27cQ/S27eA/G29A

<400> 125

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ala Asn Ala Asn Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

109

<210> 126
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 VL CDR1 G29S

<400> 126

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser Asn Ser Asn Thr Tyr Leu Tyr
 1 5 10 15

<210> 127
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 VL CDR1 L27cQ/S27eA/G29S

<400> 127

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ala Asn Ser Asn Thr Tyr Leu Tyr
 1 5 10 15

<210> 128
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 VL CDR1 L27cQ/S27eA

<400> 128

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Ala Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
 1 5 10 15

<210> 129
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 4G7 VL CDR2 A55N

<400> 129

Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser
 1 5

<210> 130
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 VL CDR3 F96I

<400> 130

Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Ile Thr
1 5

<210> 131

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4G7 VL CDR3 F96N

<400> 131

Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Asn Thr
1 5

<210> 132

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 132

Ser Tyr Val Met His
1 5

<210> 133

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 133

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 134

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 134

Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Val Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 135

<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 135

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 136
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 136

Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 137
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 137

Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 138
<211> 5
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 138

Ser Tyr Trp Met Asn
1 5

<210> 139
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 139

Gln Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly.....

<210> 140
<211> 15
<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 140

Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 141

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 141

Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 142

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 142

Asp Ala Ser Asn Leu Val Ser
1 5

<210> 143

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 143

Gln Gln Ser Thr Glu Asp Pro Trp Thr
1 5

<210> 144

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Peptide Linker

<400> 144

Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 145

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Peptide Linker

<400> 145

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 146

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Peptide Linker

<400> 146

Gly Gly Gly Ser
1