

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 568 801**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.09.2011 E 11754805 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.03.2016 EP 2614081**

54 Título: **Composiciones de anticuerpos anti-VEGFR-3**

30 Prioridad:

07.09.2010 US 380432 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

04.05.2016

73 Titular/es:

**IMCLONE LLC (100.0%)
440 Route 22 East
Bridgewater, NJ 08807, US**

72 Inventor/es:

**PYTOWSKI, BRONISLAW;
PERSAUD, KRISHNADATT y
ZAYEK, NATHALIE**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 568 801 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones de anticuerpos anti-VEGFR-3

La presente invención se refiere a anticuerpos que se unen específicamente al Receptor 3 del Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGFR-3), en particular, en el presente documento se proporcionan secuencias de aminoácidos y de ácido nucleico de anticuerpos anti-VEGFR-3, composiciones farmacéuticas y usos de dichos anticuerpos en procedimientos de tratamiento de una afección médica mediada por VEGFR-3.

Se piensa que los factores y los receptores del crecimiento, que son específicos de células endoteliales, son principalmente responsables de la estimulación, del crecimiento, de la diferenciación, así de como de determinadas funciones celulares, de las células endoteliales. Una familia muy estudiada de factores de crecimiento comprende los Factores de Crecimiento Endoteliales Vasculares (VEGF, por las siglas en inglés *Vascular Endothelial Growth Factors*).

El VEGFR-3 es la única tirosina quinasa receptora (RTK, por las siglas en inglés *Receptor Tyrosine Kinase*) cuya expresión en tejidos adultos normales está muy restringida al endotelio linfático. El VEGF-C y el VEGF-D nacientes se unen específicamente al VEGFR-3. La escisión proteolítica de las regiones N y C terminales de estas proteínas liberan los VEGF-C_{ΔNAC}, y los VEGF-D_{ΔNAC} maduros, que adquieren afinidad aumentada por el VEGFR-3. Estos ligandos activan la señalización del VEGFR-3 e inician la linfangiogénesis (es decir, la formación de nuevos vasos linfáticos, a partir de vasos linfáticos previamente existentes).

El patrón de expresión de los ligandos del VEGFR-3 sugiere su implicación no solo en el desarrollo y en el mantenimiento del sistema vascular normal, sino también en la angiogénesis y en la linfangiogénesis tumoral. Además, en el interior de tumores la expresión del VEGFR-3 se ha detectado en capilares sanguíneos. Por tanto, los anticuerpos monoclonales (mAb, *monoclonal antibodies*) que inhiben la unión del VEGF-C y/o del VEGF-D con el VEGFR-3 tienen la posibilidad de inhibir la angiogénesis tumoral.

Además, se ha observado que el bloqueo de la actividad del VEGFR-3 inhibe la linfangiogénesis tumoral potenciada por el VEGFR-3. En muchos tipos de cáncer, el primer sitio de metástasis son los ganglios linfáticos y por lo tanto el bloqueo del VEGFR-3 tiene la posibilidad de inhibir las metástasis tumorales.

Persaud, y col., J. Cell Science 117: 2745-56 (2004), describen determinadas propiedades de un anticuerpo monoclonal anti-VEGFR-3 humano, pero no desvelan la secuencia de ninguno de dichos anticuerpos ni de los epítopos con los que dichos anticuerpos pueden unirse. Por lo tanto, sigue habiendo una necesidad de anticuerpos anti-VEGFR-3 de alta afinidad que se unan a nuevos epítopos dentro del VEGFR-3 y que tengan la capacidad de bloquear la unión con el ligando y la activación de los receptores. Continúa habiendo una necesidad adicional de anticuerpos anti-VEGFR-3 que tengan la capacidad de demostrar eficacia antitumoral contra una variedad de tipos de tumores, sin efectos secundarios negativos significativos.

La presente invención proporciona un anticuerpo, o una parte de unión a antígeno del mismo, que se une al VEGFR-3 humano en el que:

- a) la unión de dicho anticuerpo con el VEGFR-3 humano se reduce en al menos 90 % mutando individualmente Pro-219 del VEGFR-3 humano por Leu; y
- b) la unión de dicho anticuerpo con el VEGFR-3 humano se reduce en al menos 50 % mutando individualmente Val-175 del VEGFR-3 humano por Ala.

Preferentemente, el nivel de unión entre el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, y el VEGFR-3 humano o mutante se ensaya expresando el dominio extracelular soluble del VEGFR-3 humano o mutante como una proteína de fusión con fosfatasa alcalina y determinando después la cantidad de cada proteína de fusión que tiene la capacidad de unirse con el anticuerpo usando un ensayo de quimioluminiscencia con fosfatasa alcalina.

La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de la presente invención junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Además, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de la presente invención, junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable y opcionalmente contiene al menos un principio terapéutico distinto.

La invención también proporciona un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de la invención para su uso como un medicamento.

Adicionalmente la invención proporciona un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de la invención para su uso en el tratamiento o prevención del cáncer de ovario, eritroleucemia humana, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, carcinoma de células renales, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de colon y metástasis de ganglios linfáticos.

5 La invención proporciona también un procedimiento de tratamiento de un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cáncer de ovario, eritroleucemia humana, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, carcinoma de células renales, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de colon y metástasis de ganglios linfáticos, en un mamífero, que comprende administrar al mamífero que necesite dicho tratamiento, una cantidad eficaz de un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de la invención.

Adicionalmente la invención proporciona un uso de un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cáncer de ovario, eritroleucemia humana, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, carcinoma de células renales, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de colon y metástasis de ganglios linfáticos.

10 La invención también proporciona un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de la invención en combinación con un agente anticanceroso adicional seleccionado de cisplatino, 5-fluorouracilo, leucovorina, oxaliplatino y docetaxel para su uso simultáneo, individual o secuencial, en terapia.

15 Adicionalmente la invención proporciona un procedimiento de tratamiento de un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cáncer de ovario, eritroleucemia humana, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, carcinoma de células renales, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de colon y metástasis de ganglios linfáticos en un mamífero, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una combinación terapéuticamente eficaz de un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de la invención y un agente anticanceroso adicional seleccionado de cisplatino, 5-fluorouracilo, leucovorina, oxaliplatino y docetaxel.

20 Los anticuerpos de la presente invención se unen al segundo dominio similar a inmunoglobulina (Ig) de un VEGFR-3 de mamífero. El segundo dominio similar a Ig de un VEGFR-3 humano corresponde a los restos 138 a 226 del receptor de longitud completa. Véase, Pajusola, y col., Cancer Res. 52: 5738-5743 (1992).

25 La expresión "segundo dominio similar a Ig de un VEGFR-3 de mamífero/ser humano/ratón" (y sus variaciones) pretende incluir formas del dominio de origen natural (por ejemplo, purificado de una célula que expresa el dominio en condiciones normales) así como versiones recombinantes, por ejemplo, codificadas por mutantes puntuales de origen natural o sintéticos o sus versiones truncadas.

30 Los anticuerpos de la presente invención se unen a un epítipo en el segundo dominio similar a Ig del VEGFR-3 humano en el que P219 es el constituyente dominante del epítipo, V 175 es un constituyente subordinado del epítipo y L221 es un constituyente minoritario del epítipo. (La numeración de estos restos está en consonancia con el VEGFR-3 humano de longitud completa, como describen Pajusola y col., citados anteriormente y con la base de datos EMBL, número de registro X 68203). Este hallazgo se basa en parte en la observación de que la inclusión de las mutaciones V175A o P219L o L221V (es decir, la sustitución de los restos del VEGFR-3 murino ortólogo) en el VEGFR-3 humano anula o reduce significativamente la unión de los anticuerpos de la presente invención con el VEGFR-3 humano mutante.

35 Además, los anticuerpos de la presente invención que se unen a un epítipo en el VEGFR-3 humano (en el que P219 es el constituyente dominante del epítipo, V175 es un constituyente subordinado del epítipo y L221 es un constituyente minoritario del epítipo) pueden bloquear la unión del VEGF-C ligando con el VEGFR-3 y por tanto neutralizar la actividad del receptor. Por consiguiente, la presente invención proporciona un nuevo epítipo neutralizante en el VEGFR-3 humano que permite la producción de nuevos anticuerpos neutralizantes contra el VEGFR-3 humano, que pueden bloquear la unión del VEGF-C humano con el receptor. La invención por tanto
40 proporciona un epítipo del VEGFR-3 humano en el que P219 es el constituyente dominante del epítipo, V 175 es un constituyente subordinado del epítipo y L221 es un constituyente minoritario del epítipo.

45 La invención también proporciona un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, que se une a un epítipo del VEGFR-3 humano que comprende los restos de aminoácido P219 y V175. Preferentemente, la invención también proporciona un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, que se une a un epítipo del VEGFR-3 humano que comprende los aminoácidos P219, V175 y L221. Dicho epítipo se une por anticuerpos de la presente invención (por ejemplo, Anticuerpo 1) y por lo tanto la invención también proporciona un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, que reacciona con el mismo epítipo del VEGFR-3 humano como un anticuerpo que tiene una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16. Un anticuerpo que reacciona con el mismo epítipo del VEGFR-3 humano como determinados anticuerpos de la presente invención (por ejemplo Anticuerpo 1) competiría por la unión
50 con el VEGFR-3 humano y por consiguiente la invención también proporciona un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, que compite con un anticuerpo que tiene una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16 por la unión con el VEGFR-3 humano.

55 Preferentemente, un anticuerpo de la presente invención también se une a un VEGFR-3 mutante de ratón que tiene la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 20 (que incluye la mutación L219P) y a un VEGFR-3 mutante de ratón que tiene la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 21 (que incluye la mutación A175V) en el que la unión con el VEGFR-3 mutante de ratón que tiene la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 20 aumenta en más de 50 veces cuando se

compara con la unión con el VEGFR-3 de tipo silvestre de ratón (SEQ ID NO: 19) y la unión con el VEGFR-3 mutante de ratón que tiene la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 21 aumenta en más de 10 veces cuando se compara con la unión con el VEGFR-3 de tipo silvestre de ratón.

5 Preferentemente, el nivel de unión entre el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, y el VEGFR-3 de tipo silvestre de ratón o mutante de ratón, se ensaya expresando el dominio extracelular soluble del VEGFR-3 de tipo silvestre de ratón o mutante de ratón, como una proteína de fusión con fosfatasa alcalina y determinando después la cantidad de cada proteína de fusión que tiene la capacidad de unirse con el anticuerpo usando un ensayo de quimioluminiscencia con fosfatasa alcalina.

10 Preferentemente, un anticuerpo de la presente invención, o parte de unión a antígeno del mismo, tiene una alta afinidad por el VEGFR-3 humano. Por ejemplo, un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, que tiene un valor K_d de entre 1×10^{-9} M y $5,6 \times 10^{-11}$ M para el VEGFR-3 humano, medido por resonancia de plasmón superficial en un biosensor BIACORE® 2000 a 20 °C. Más preferentemente, el anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, tiene un valor K_d de entre 1×10^{-10} M y $5,6 \times 10^{-11}$ M para el VEGFR-3 humano, medido por resonancia de plasmón superficial en un biosensor BIACORE® 2000 a 20 °C.

15 Preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-VEGFR-3, o una parte de unión a antígeno del mismo, que inhibe la unión del VEGF- $C_{\Delta N_{\Delta C}}$ humano con el VEGFR-3 con una CI_{50} entre 2 nM y 1,3 nM.

20 Preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-VEGFR-3, o una parte de unión a antígeno del mismo, que inhibe la respuesta mitogénica estimulada por VEGF- $C_{\Delta N_{\Delta C}}$ con una CI_{50} de entre 10 nM y 5 nM. Más preferentemente, el anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, inhibe la respuesta mitogénica estimulada por VEGF- $C_{\Delta N_{\Delta C}}$ con una CI_{50} de entre 8 nM y 5 nM, lo más preferentemente de entre 6 nM y 5 nM en un ensayo como el descrito en el Ejemplo 5.

25 Preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, que se une al VEGFR-3 humano y que comprende la región variable de cadena ligera (LCVR, *light chain variable region*) y una región variable de cadena pesada (HCVR, *heavy chain variable region*), en el que la LCVR comprende las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) LCDR1, LCDR2 y LCDR3 y la HCVR comprende las CDR HCDR1, HCDR2 y HCDR3, en el que la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, la LCDR2 comprende el polipéptido de SEQ ID NO: 3, la LCDR3 comprende el polipéptido de SEQ ID NO: 3, la HCDR1 comprende el polipéptido de SEQ ID NO: 6, la HCDR2 comprende el polipéptido de SEQ ID NO: 7 y la HCDR3 comprende el polipéptido de SEQ ID NO: 8.

30 Más preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, que se une al VEGFR-3 humano y que comprende un polipéptido LCVR de SEQ ID NO: 5 y un polipéptido HCVR de SEQ ID NO: 10.

35 Más preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, que se une al VEGFR-3 humano y que comprende una cadena ligera que comprende el polipéptido de SEQ ID NO: 15 y una cadena pesada que comprende el polipéptido de SEQ ID NO: 16.

Aún más preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, que se une al VEGFR-3 humano y que comprende dos cadenas ligeras que comprenden el polipéptido de SEQ ID NO: 15 y dos cadenas pesadas que comprenden el polipéptido de SEQ ID NO: 16.

40 Preferentemente, la invención proporciona un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, que compite con un anticuerpo de la invención por la unión con el VEGFR-3 humano.

Preferentemente, la invención proporciona un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, que es un anticuerpo humano.

Preferentemente, la invención proporciona un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, que es un anticuerpo humano modificado por ingeniería genética.

45 Definiciones

El término "anticuerpo" como se usa en el presente documento, pretende referirse a anticuerpos monoclonales que pueden ser anticuerpos completamente humanos o anticuerpos humanos modificados por ingeniería genética, así como fragmentos de digestión, partes específicas y sus variantes, incluyendo miméticos de anticuerpo, partes de anticuerpos que imitan la estructura y/o función de un anticuerpo o un fragmento especificado o parte del mismo, que incluye anticuerpos monocatenarios y fragmentos de los mismos, que conservan la capacidad de unirse al segundo dominio similar a Ig del VEGFR-3 humano. Por ejemplo, los fragmentos de anticuerpo que tienen la capacidad de unirse específicamente con el segundo dominio similar a Ig del VEGFR-3 humano incluidos en la presente invención, incluyen fragmentos Fab (por ejemplo, por digestión con papaína), un fragmento Facb (por ejemplo, por digestión con plasmina), fragmentos $F(ab')_2$ (por ejemplo, por digestión con pepsina) y fragmentos variables estabilizados con disulfuro (dsFv) o fragmentos variables monocatenarios (scFv) generados por técnicas

de biología molecular. Los fragmentos de anticuerpo también pretenden incluir, por ejemplo, anticuerpos con dominio deleciónado, diacuerpos y triacuerpos que conservan la capacidad de unirse al segundo dominio similar a Ig del VEGFR-3 humano.

5 Los anticuerpos incluyen moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H, *heavy*) y dos cadenas ligeras (L, *light*) interconectadas por enlaces disulfuro. Cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en el presente documento como HCVR) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada contiene tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como LCVR) y una región constante de cadena ligera. Las cadenas ligeras de los anticuerpos de cualquier especie de vertebrado pueden asignarse a una de los dos tipos claramente distintos, denominados kappa (κ) y lambda (λ), basándose en las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes. La expresión LCVR, como se usa en el presente documento, pretende incluir tanto las regiones variables de las cadenas ligeras de tipo kappa ($V\kappa$) como las regiones variables de las cadenas ligeras de tipo lambda ($V\lambda$). La región constante de cadena ligera comprende un dominio, CL. Las regiones HCVR y LCVR incluyen regiones de hipervariabilidad de secuencia, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que son más conservadas, denominadas regiones marco conservadas (FR, *framework regions*). Cada HCVR y LCVR está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. Para los fines de la presente invención, las CDR de la LCVR se abrevian como LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y las CDR de la HCVR se abrevian como HCDR1, HCDR2 y HCDR3.

20 Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, los anticuerpos pueden asignarse a diferentes clases. Hay cinco clases principales de anticuerpos intactos: IgA, IgD, IgE, IgG, e IgM. Algunas de estas pueden dividirse adicionalmente en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, e IgA2. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de anticuerpos se denominan alfa (α), delta (Δ), épsilon (ϵ), gamma (γ) y mu (μ), respectivamente. Las estructuras subunitarias y las configuraciones tridimensionales de las diferentes clases de inmunoglobulinas son muy conocidas. La presente invención incluye anticuerpos que se encuentran en cualquiera de las clases o subclases (isotipos) mencionadas anteriormente.

30 Como se usa en el presente documento, un "anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, por ejemplo, los anticuerpos individuales que comprenden la población son sustancialmente idénticos excepto por posibles mutaciones de origen natural o variantes postraduccionales minoritarias que puedan existir. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, dirigiéndose contra un solo sitio antigénico (también conocido como determinante o epítipo), que como se piensa en el presente documento, está contenido en el segundo dominio similar a Ig de un VEGFR-3 de mamífero. Además, a diferencia de las preparaciones de anticuerpos (policlonales) convencionales, que típicamente incluyen anticuerpos diferentes dirigidos contra diferentes determinantes, cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un solo determinante en el antígeno. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo que se obtiene de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, y no debe considerarse como que requiere la producción del anticuerpo mediante ningún procedimiento particular.

40 Como se usa en el presente documento, un "anticuerpo humano" se refiere a anticuerpos que tienen regiones variables y constantes correspondientes a secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana (como se describe en Kabat y col., (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª edición, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication n.º 91-3242). La expresión "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, no pretende incluir anticuerpos en los que las secuencias de las CDR proceden de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como de un ratón, que se han injertado en secuencias marco conservadas humanas.

50 En el presente documento se desvelan modificaciones en la secuencia de aminoácidos del Anticuerpo 1 y se incluyen dentro del ámbito de la presente invención, particularmente en relación con mejoras en la afinidad de unión y/u otras propiedades biológicas de los anticuerpos. En este contexto, la expresión "anticuerpo humano modificado por ingeniería genética", como se usa en el presente documento, se refiere a anticuerpos adicionales que tienen propiedades funcionales similares a las del Anticuerpo 1 (por ejemplo, la capacidad de unirse al VEGFR-3 humano en un epítipo que comprende P219 y VH175) y que tienen regiones marco conservadas que son CDR sustancialmente humanas o circundantes completamente humanas que proceden del Anticuerpo 1. Las regiones marco conservadas sustancialmente humanas en el contexto de la presente invención son aquellas que tienen una identidad de secuencia de al menos 80 % con las regiones marco conservadas del Anticuerpo 1. Preferentemente, dichas regiones marco conservadas sustancialmente humanas tienen una identidad de secuencia de al menos aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 % o aproximadamente 99 % con las regiones marco conservadas del Anticuerpo 1. Las secuencias de la línea germinal humana se describen en el documento WO 2007/044411. Por ejemplo, las regiones marco conservadas de cadena ligera de la línea germinal pueden seleccionarse del grupo que consiste en A11, A 17, A 18, A19, A20, A27, A30, L1, L11, L12, L2, L5, L15, L6, L8, O12, O2, y O8 y las regiones marco conservadas de cadena pesada de la línea germinal pueden seleccionarse del grupo que consiste en: VH2-5, VH2-26, VH2-70, VH3-20, VH3-72, VH1-46, VH3-9, VH3-66, VH3-74, VH4-31, VH

I-18, VH I-69, VH3-11, VH3-15, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-48, VH4-39, VH4-59, y VH5-5I.

Los anticuerpos humanos modificados por ingeniería genética procedentes del Anticuerpo 1 pueden incluir delecciones de y/o inserciones en y/o sustituciones de restos dentro de la secuencia del Anticuerpo 1. Sin embargo, la construcción final debe conservar las características funcionales deseadas del Anticuerpo 1 (por ejemplo, la capacidad de unirse al VEGFR-3 humano en un epítipo que comprende P219 y V175).

Pueden generarse anticuerpos humanos modificados por ingeniería genética que tienen propiedades funcionales similares a las del Anticuerpo 1 usando diversas estrategias diferentes, comenzando cada estrategia con el Anticuerpo 1 (es decir, un anticuerpo que tiene las secuencias de LCVR y HCVR como se muestra en las SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 10, respectivamente) como un molde o anticuerpo parental para crear anticuerpos adicionales. En una primera estrategia, las CDR del Anticuerpo 1 se injertan en un armazón humano diferente que tiene una alta identidad de secuencia con las regiones marco conservadas del Anticuerpo 1. La identidad de secuencia del nuevo armazón generalmente será de al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 99 % idéntica con el armazón correspondiente en el Anticuerpo 1. Este injerto puede dar como resultado una reducción en la afinidad de unión en comparación con el Anticuerpo 1. Si este fuese el caso, el armazón puede retromutarse en el armazón del Anticuerpo 1 en determinadas posiciones basándose en los criterios específicos publicados por Queen y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 2869 (1991). La identificación de restos para considerar una retromutación puede realizarse de la siguiente manera: cuando un aminoácido se encuentra en cualquiera de las siguientes categorías, el aminoácido armazón de la secuencia de la línea germinal humana que se usa (armazón aceptor) se reemplaza por un aminoácido armazón del armazón del Anticuerpo 1 (armazón donador):

- (a) la secuencia de aminoácidos en la región marco conservada humana del armazón aceptor es inusual para los armazones humanos en esa posición, mientras que el aminoácido correspondiente en el Anticuerpo 1 es típico para armazones humanos en esa posición;
- (b) la posición de los aminoácidos es inmediatamente adyacente a una de las CDR; o
- (c) cualquier átomo de la cadena lateral de un aminoácido armazón está dentro de aproximadamente 5-6 angstroms (centro a centro) de cualquier átomo de un aminoácido de CDR en un modelo de inmunoglobulina tridimensional.

Cuando cada uno de los aminoácidos en la región marco conservada humana de un armazón aceptor y el aminoácido correspondiente en el armazón del Anticuerpo 1 es inusual para armazones humanos en esa posición, dicho aminoácido puede reemplazarse por un aminoácido típico para armazones humanos en esa posición. Estos criterios de retromutación permiten recuperar la actividad del Anticuerpo 1.

En una segunda estrategia, pueden generarse anticuerpos humanos modificados por ingeniería genética derivados del Anticuerpo 1 que conserven las propiedades funcionales del Anticuerpo 1 (por ejemplo, la capacidad de unirse al VEGFR-3 humano en un epítipo que comprende P219 y V175), mutando las CDR del Anticuerpo 1 (bien al azar o de una manera sesgada para impedir la degeneración del código de aminoácidos) conservando al mismo tiempo las regiones marco conservadas del Anticuerpo 1. Preferentemente, las mutaciones (delecciones, inserciones y/o sustituciones) en las secuencias de aminoácidos de las CDR de los anticuerpos humanos modificados por ingeniería genética derivados del Anticuerpo 1 se limitan a un máximo de tres mutaciones, más preferentemente a dos mutaciones y lo más preferentemente a una sola mutación en las secuencias CDR del anticuerpo humano modificado por ingeniería genética cuando se compara con las secuencias CDR del Anticuerpo 1. Cuando hay más de una mutación, las mutaciones pueden distribuirse a través de las secuencias CDR de diversas maneras diferentes. Por ejemplo, todas las mutaciones pueden producirse en una sola secuencia CDR (por ejemplo LC1D1), cada mutación puede ocurrir en una secuencia CDR diferente o pueden encontrarse dos mutaciones en una secuencia CDR y una tercera mutación encontrarse en otra secuencia CDR. Esto da como resultado la creación de una biblioteca combinatoria de anticuerpos humanos modificados por ingeniería genética, en la que las secuencias CDR estén mutadas en una o más posiciones como se ha descrito anteriormente, conservando al mismo tiempo las regiones marco conservadas del Anticuerpo 1. La biblioteca puede explorarse para variantes adicionales que tengan propiedades funcionales similares o mejoradas cuando se comparan con las del Anticuerpo 1.

Una estrategia adicional para generar anticuerpos humanos modificados por ingeniería genética derivados del Anticuerpo 1 (y que conserven las propiedades funcionales del Anticuerpo 1, por ejemplo, la capacidad de unirse al VEGFR-3 humano en un epítipo que comprenda P219 y V175) es combinar las dos estrategias descritas anteriormente y realizar cambios tanto en las regiones marco conservadas como en las CDR. En otras palabras, después de injertar las CDR del Anticuerpo 1 en un armazón diferente, los restos marco conservados específicos pueden retromutarse además de realizar cambios en las CDR. El principio general de esta metodología se describe en Wu y col., (1999), J. Mol. Biol. 294: 151-162.

Los cambios de aminoácidos también pueden alterar procesos postraduccionales de los anticuerpos humanos modificados por ingeniería genética, tal como cambiando el número o la posición de los sitios de glucosilación.

Pueden generarse variantes de sustitución sustituyendo uno o más restos de la región hipervariable del Anticuerpo 1. Un procedimiento de este tipo para generar variantes sustitucionales es conocido como maduración por afinidad usando presentación en fagos. Diversos sitios de la región hipervariable (por ejemplo, 6-7 sitios) se mutan para

generar todas las posibles sustituciones de aminoácidos en cada sitio. Las variantes de anticuerpo así generadas se presentan de una manera monovalente a partir de partículas de fagos filamentosos como fusiones con el producto del gen III de M13 empaquetado dentro de cada partícula. Las variantes de presentación en fagos se exploran después con respecto a su actividad biológica (por ejemplo, afinidad de unión) como se desvela en el presente documento.

Los ensayos desvelados en el presente documento pueden usarse para explorar anticuerpos humanos modificados por ingeniería genética derivados del Anticuerpo 1 para identificar aquellos anticuerpos que tienen las funciones *in vitro* e *in vivo* como se desvela en el presente documento.

Los anticuerpos de la presente invención pueden ser anticuerpos aislados. Un anticuerpo aislado carece sustancialmente de otro material celular y/o productos químicos.

El término "epítipo", como se usa en el presente documento, se refiere a una región molecular particular en la superficie de un antígeno con la capacidad de suscitar una respuesta inmunitaria y de unirse al anticuerpo específico producido por dicha respuesta. Un epítipo puede ser un epítipo lineal (es decir, compuesto de restos de aminoácidos contiguos todos ellos contenidos dentro de un solo tramo corto de secuencia) o puede ser un epítipo conformacional (es decir, compuesto por restos de aminoácidos que están en partes dispares de la secuencia lineal del antígeno, pero que están asociados entre sí para formar el sitio de unión con el anticuerpo del anticuerpo una vez que el antígeno asume su estructura secundaria y terciaria apropiada). Típicamente, un epítipo está constituido por un número pequeño (por ejemplo, de 2 a 5) de restos de aminoácidos clave y la alteración de estos restos (por ejemplo, por mutación con un resto de aminoácido diferente) da como resultado una reducción significativa o incluso una anulación completa de la unión entre el antígeno y el epítipo.

Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que "compiten" con las moléculas desveladas en el presente documento, son aquellos que se unen al VEGFR-3 humano en uno o más sitios que son idénticos a, o se solapan con, uno o más sitios en los que se unen las moléculas presentes. La competición de los anticuerpos humanos modificados por ingeniería genética o fragmentos de unión a antígeno de los mismos puede identificarse, por ejemplo, mediante un ensayo de competición de anticuerpos. Por ejemplo, una muestra de VEGFR-3 humano purificado o parcialmente o purificado se une a un soporte sólido. Después, se añade un anticuerpo de la presente invención y un anticuerpo monoclonal de ensayo o fragmento de unión a antígeno del mismo, con cualquiera del anticuerpo de ensayo o de la presente invención marcado. Si el anticuerpo marcado y el anticuerpo no marcado se unen en sitios distintos y separados en el VEGFR-3, el anticuerpo marcado se unirá al mismo nivel tanto si el anticuerpo que se sospecha que es competitivo está presente como si no. Sin embargo, si los sitios de interacción son idénticos o se solapan, el anticuerpo no marcado competirá, y la cantidad de anticuerpo marcado unido al antígeno será menor. Si el anticuerpo no marcado está presente en exceso, ningún anticuerpo marcado se unirá. Para los fines de la presente invención, la competición de los anticuerpos humanos modificados por ingeniería genética o fragmentos de unión a antígeno de los mismos será la que disminuya la unión de los anticuerpos presentes en aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 % o aproximadamente 99 %. Los detalles de los procedimientos para realizar dichos ensayos de competición son muy conocidos en la técnica y pueden encontrarse, por ejemplo, en Harlow y Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, páginas 567-569, ISBN 0-87969-314-2. Dichos ensayos pueden hacerse cuantitativos usando anticuerpos purificados. Una curva patrón se establece titulando un anticuerpo contra sí mismo, es decir, se usa el mismo anticuerpo tanto para marcarlo como para el competidor. La capacidad de un anticuerpo monoclonal competitivo no marcado o fragmentos de unión a antígeno del mismo para inhibir la unión de la molécula marcada con la placa se titula. Los resultados se representan gráficamente y se comparan las concentraciones necesarias para obtener el grado de inhibición de unión deseado.

El VEGFR-3 humano existe en dos formas, que se generan mediante transcritos de ARNm de diferente longitud. El transcrito más largo codifica una proteína que contiene 65 restos de aminoácido extra en el extremo C cuando se compara con la proteína codificada con el transcrito más corto, siendo la proteína más larga la forma principal detectada en tejidos. Las dos variantes son idénticas en sus dominios extracelulares N terminales. La expresión "VEGFR-3 humano", a menos que se indique de otra manera, se refiere a ambas variantes del VEGFR-3 humano de tipo silvestre (es decir, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18) que proceden de los transcritos alternativos de ARNm.

Las secuencias de ácido nucleico y de aminoácidos correspondientes de la región LCVR del Anticuerpo 1 se designan como SEQ ID NO: 4 y 5 respectivamente

Las secuencias de ácido nucleico y de aminoácidos correspondientes de la región HCVR del Anticuerpo 1 se designan en el presente documento como SEQ ID NO: 9 y 10 respectivamente.

Las secuencias de ácido nucleico y de aminoácidos correspondientes de la cadena ligera del Anticuerpo 1 se designan en el presente documento como SEQ ID NO: 11 y 12 respectivamente. Los restos de aminoácidos 1-19 de la SEQ ID NO: 12 constituyen una secuencia secretora útil en la expresión y extracción de la cadena ligera de diversas líneas de células hospedadoras de mamífero, pero que no están presentes en el anticuerpo maduro. La secuencia de aminoácidos de la cadena ligera madura del Anticuerpo 1 se designa en el presente documento como

SEQ ID NO: 15

Las secuencias de ácido nucleico y de aminoácidos correspondientes de la cadena pesada del Anticuerpo 1 se designan como SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente. Como en el caso de la secuencia para la cadena ligera, los restos de aminoácidos 1-18 de la SEQ ID NO: 14 constituyen una secuencia secretora útil en la expresión y extracción de la cadena pesada de diversas líneas de células hospedadoras de mamífero, pero que no están presentes en el anticuerpo maduro. La secuencia de aminoácidos de la cadena pesada madura del Anticuerpo 1 se designa en el presente documento como SEQ ID NO: 16.

La especificidad de un anticuerpo puede determinarse basándose en su afinidad y/o aidez. La afinidad, representada por la constante de equilibrio para la disociación de un antígeno con un anticuerpo (K_d), mide la fuerza de unión entre un determinante antigénico y un sitio de unión a anticuerpo. La aidez es la medida de la fuerza de unión entre un anticuerpo con su antígeno. La aidez está relacionada tanto con la afinidad entre un epítipo con su sitio de unión a antígeno del anticuerpo como con la valencia del anticuerpo, que se refiere al número de sitios de unión a antígeno de un epítipo particular. Cuanto menor sea el valor de la K_d , mayor será la fuerza de unión entre un determinante antigénico y el sitio de unión al anticuerpo.

La presente invención también proporciona un polinucleótido que codifica una cadena pesada de un anticuerpo de la presente invención (por ejemplo, el Anticuerpo 1 - SEQ ID NO: 13), o polinucleótidos que comprenden una cualquiera de las regiones VH o una parte de las mismas, o una cualquiera de las CDR de VH, incluyendo cualquiera de sus variantes, de un anticuerpo de la presente invención (por ejemplo, el Anticuerpo 1). La presente invención también proporciona un polinucleótido que codifica una cadena ligera de un anticuerpo de la presente invención (por ejemplo, el Anticuerpo 1 - SEQ ID NO: 11), o polinucleótidos que comprenden una cualquiera de las regiones VL o una parte de las mismas, o una cualquiera de las CDR de VH, incluyendo cualquiera de sus variantes, de un anticuerpo de la presente invención (por ejemplo, el Anticuerpo 1).

La invención también incluye vectores de expresión que comprenden cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento. Como vectores ejemplares se incluyen ácidos nucleicos de plásmidos, fagémidos, cósmidos, virus y fagos u otras moléculas de ácido nucleico que son pueden efectuar su replicación en hospedadores procariontes o eucariotas, tal como en una célula, por ejemplo, una célula de mamífero. Los vectores de expresión típicos contienen secuencias de inicio y terminación de la transcripción y traducción y promotores útiles para la regulación de la expresión de las moléculas de ácido nucleico de la invención. Los vectores también pueden contener casetes de expresión genética que contienen una secuencia terminadora independiente, secuencias que permiten la replicación del vector tanto en eucariotas como en procariontes, es decir, vectores lanzadera y marcadores de selección para sistemas tanto de procariontes como de eucariotas. Típicamente, los vectores contienen un marcador que proporciona un rasgo fenotípico para la selección de hospedadores transformados, tal como conferir resistencia a antibióticos tales como ampicilina o neomicina.

Los promotores adecuados incluyen promotores constitutivos y promotores inducibles. Las secuencias/promotores de control de expresión representativos incluyen el sistema *lac*, el sistema *trp*, el sistema *tac*, el sistema *trc*, las regiones operadoras y promotoras principales del fago lambda, la región de control de la proteína de recubrimiento *fd*, los promotores glucolíticos de levadura, por ejemplo, el promotor para la 3-fosfoglicerato quinasa, los promotores de la fosfatasa ácida de levadura, por ejemplo, *Pho5*, los promotores de los factores de acoplamiento alfa de levadura, promotores derivados de citomegalovirus humanos, promotor de metalotionina, promotor del virus del tumor mamario murino, promotor del virus del sarcoma de Rous, promotor de la polihedrina y promotores derivados de polioma, adenovirus, retrovirus y virus de simio, por ejemplo, los promotores de SV40 tempranos y tardíos.

La invención también incluye hospedadores no humanos tales como células que contienen un polinucleótido o un vector de la invención. Por "hospedador" se entiende un organismo multicelular no humano o una "célula hospedadora", que se refiere a una célula o a una población de células en la que se introduce un polinucleótido o un vector de la invención. Una célula hospedadora de la presente invención puede ser una célula o una línea celular eucariota, tal como una célula o una línea celular vegetal, animal, de vertebrado, mamífero, roedor, ratón, primate o ser humano. Las células eucariotas adecuadas incluyen células de levadura y de otros hongos, de insectos, de plantas, de seres humanos y de animales, incluyendo células de mamífero, tales como líneas de hibridoma, células COS, células NS0 y células CHO. Por "una población de células hospedadoras" se entiende un grupo de células cultivadas en las que puede introducirse y expresarse un polinucleótido o un vector de la presente invención. Se contempla cualquier célula hospedadora que sustente la expresión de un polinucleótido o un vector de la invención.

Un hospedador de la presente invención también puede ser un procarionte. Los hospedadores procariontes adecuados incluyen, por ejemplo, *E. coli*, tal como *E. coli* SG-936, *E. coli* HB 101, *E. coli* W3110, *E. coli* X1776, *E. coli* X2282, *E. coli* DHI, y *E. coli* MRC1, *Pseudomonas*, *Bacillus*, tal como *Bacillus subtilis*, y *Streptomyces*.

La invención también incluye procedimientos para producir un anticuerpo de la presente invención, que conllevan cultivar una célula hospedadora que exprese uno o más polinucleótidos que codifiquen un anticuerpo de la presente invención, y recuperar el anticuerpo del medio de cultivo.

Los anticuerpos de la presente invención pueden usarse como medicamentos en medicina humana y administrarse mediante diversas vías. Más preferentemente, las composiciones farmacéuticas que comprenden los anticuerpos de la presente invención son para administración parenteral. Dichas composiciones farmacéuticas pueden prepararse mediante procedimientos bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19ª ed. (1995), A. Gennaro et al., Mack Publishing Co.) y comprenden un anticuerpo, como se desvela en el presente documento, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Como se usa en el presente documento, los términos “inhibir” o “neutralizar” con respecto a una bioactividad de un anticuerpo de la invención dan a entender la capacidad de antagonizar, prohibir, prevenir, restringir, disminuir, alterar, eliminar, detener, reducir o invertir sustancialmente una bioactividad del VEGFR-3 humano, incluyendo, pero sin limitación, una bioactividad del VEGFR-3 humano, como se mide en el Ejemplo 4 o 5 del presente documento.

Como se usa en el presente documento, los términos “tratar” y “tratamiento” se refieren a tratamiento terapéutico, en el que el objeto es prevenir o ralentizar (aminorar) un cambio fisiológico no deseado asociado con una enfermedad o un trastorno. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen el alivio de los síntomas, la disminución del grado de una enfermedad o un trastorno, la estabilización de una enfermedad o un trastorno (es decir, en el que la enfermedad o el trastorno no empeore), el retraso o disminución de la progresión de una enfermedad o trastorno, la mejora o alivio de la enfermedad o trastorno y la remisión (bien parcial o total) de la enfermedad o trastorno, ya sea detectable o no detectable. “Tratamiento” también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Las personas que necesitan tratamiento incluyen las que ya tienen la enfermedad o el trastorno, así como las propensas a tener la enfermedad o el trastorno.

Las composiciones de la invención pueden incluir una “cantidad terapéuticamente eficaz” de un anticuerpo de la invención. Una “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a una cantidad eficaz, a dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios, para obtener el resultado terapéutico deseado. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo puede variar de acuerdo con factores tales como la patología, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad del anticuerpo, o parte del anticuerpo, para suscitar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad terapéuticamente eficaz es también una en la que cualquiera de los efectos tóxicos o perjudiciales del anticuerpo, o parte del anticuerpo, se supera mediante los efectos terapéuticamente beneficiosos.

La terapia puede ser de “primera línea”, es decir, como un tratamiento inicial en pacientes que previamente no han tenido un tratamiento contra el cáncer, bien en solitario o en combinación con otros tratamientos; o de “segunda línea”, como un tratamiento en pacientes que previamente ya han tenido un régimen de tratamiento contra el cáncer, bien en solitario o en combinación con otros tratamientos; o de “tercera línea”, “cuarta línea”, etc., bien en solitario o en combinación con otros tratamientos.

La terapia también puede ofrecerse a pacientes que han tenido tratamientos previos que han sido parcialmente satisfactorios, pero que son intolerantes al tratamiento en particular. La terapia también puede ofrecerse como un tratamiento adyuvante, es decir, para prevenir la reaparición del cáncer en pacientes con enfermedad actualmente no detectable o después de la extirpación quirúrgica del tumor.

Los cánceres tratados con la invención incluyen tumores primarios y tumores secundarios o metastásicos que han metastatizado a través del sistema linfático (incluyendo los metastatizados de pulmón, mama o próstata).

Los cánceres que pueden tratarse incluyen tumores que no están vascularizados, o que aún no están sustancialmente vascularizados, así como tumores vascularizados. Los cánceres pueden comprender tumores no sólidos (tales como leucemias y linfomas) o pueden ser tumores sólidos.

Los tipos de cánceres a tratar con los anticuerpos de la invención incluyen cáncer de ovario, eritroleucemia humana, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, carcinoma de células renales, cáncer pancreático, cáncer de pulmón y cáncer de colon. Además, dada la función de la ruta de VEGF-C/VEGFR-3 en la promoción de la linfangiogénesis y dado que, para la mayoría de los tipos de cáncer, el primer sitio de metástasis son los ganglios linfáticos, debería esperarse que el bloqueo de la ruta de VEGF-C/VEGFR-3 inhiba las metástasis de los ganglios linfáticos, por ejemplo, de cáncer de mama, pancreático, gástrico o colorrectal (Roberts et al., Cancer Res., 66(5), 2650-2657(2006)).

El anticuerpo puede administrarse solo (monoterapia), o en combinación con uno o más agentes o tratamientos terapéuticamente eficaces (terapia de combinación). El otro agente terapéuticamente eficaz puede conjugarse con el anticuerpo, incorporarse en la misma composición que la del anticuerpo o puede administrarse como una composición distinta. El otro agente o tratamiento terapéuticamente eficaz puede administrarse antes, durante y/o después de la administración del anticuerpo. El otro agente terapéuticamente eficaz puede administrarse para aumentar el efecto terapéutico del anticuerpo, o para disminuir los efectos secundarios negativos del anticuerpo.

Los procedimientos de tratamiento descritos en el presente documento pueden usarse para tratar a cualquier mamífero, incluyendo primates, tales como monos y seres humanos, caballos, vacas, gatos, perros, conejos y roedores, tales como ratas y ratones, de un modo adecuado. En una realización, el mamífero a tratar es un ser humano.

Se observará, por referencia a los siguientes ejemplos, que el Anticuerpo 1 se une a un epítipo en el VEGFR-3 humano que comprende P219 como el constituyente dominante del epítipo, V175 como un constituyente subordinado del epítipo y L221 como un constituyente minoritario del epítipo. Además puede observarse que el Anticuerpo 2 (un anticuerpo monoclonal de rata de referencia suscitado contra el VEGFR-3 murino) se une a un epítipo en el VEGFR-3 murino, que comprende los restos L219 y V221. Además, los ejemplos también demuestran que el Anticuerpo 1 tiene alta afinidad por el VEGFR-3 humano (56 pM), tiene la capacidad de bloquear la unión del VEGF-C ligando con el VEGFR-3, tiene la capacidad de bloquear la respuesta mitogénica estimulada por VEGF-C y es eficaz en modelos de xenoinjerto *in vivo* de cáncer de ovario y de eritroleucemia humana ELH-. Finalmente, también puede observarse que el Anticuerpo 2 es eficaz en modelos de xenoinjerto de cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, cáncer de pulmón, CCR, cáncer pancreático y cáncer de colon.

Ejemplo 1

Los anticuerpos de la presente invención pueden fabricarse y purificarse usando diversos procedimientos adecuados muy conocidos en la técnica. Por ejemplo, una célula hospedadora apropiada, tal como HEK 293 EBNA o CHO, se transfecta de manera transitoria o estable con un sistema de expresión para secretar anticuerpos usando una proporción de vectores de cadena ligera con respecto a cadena pesada óptima predeterminada o un solo sistema de vector que codifique tanto una cadena ligera (por ejemplo SEQ ID NO: 12, para el Anticuerpo 1) como una cadena pesada (por ejemplo, SEQ ID NO: 14 para el Anticuerpo 1). El medio clarificado en el cual se ha segregado el anticuerpo se purifica usando cualquiera de las muchas técnicas habitualmente usadas. Por ejemplo, el medio puede aplicarse convenientemente a una columna de Proteína A o G Sepharose FF que se ha equilibrado con un tampón compatible, tal como con una solución salina tamponada con fosfato (pH 7,4). La columna se lava para retirar los componentes de unión inespecíficos. El anticuerpo unido se eluye, por ejemplo, mediante un gradiente de pH (tal como tampón de fosfato de sodio 0,1 M, pH 6,8 frente a un tampón de citrato de sodio 0,1 M pH 2,5). Las fracciones de anticuerpo se detectan, tal como mediante SDS-PAGE, y después se agrupan. La purificación adicional es opcional, dependiendo del uso que se pretenda. El anticuerpo puede concentrarse y/o filtrarse de forma estéril usando técnicas habituales. El agregado soluble y los multímeros pueden eliminarse eficazmente mediante técnicas habituales, entre las que se incluyen, cromatografía por exclusión por tamaño, interacción hidrófoba, intercambio iónico o con hidroxapatita. La pureza del anticuerpo, después de estas etapas de cromatografía, es mayor del 99 %. El producto puede congelarse inmediatamente a -70 °C o puede liofilizarse. Las secuencias de aminoácidos de las CDR y de la región variable (determinadas usando el procedimiento de Kabat) para el Anticuerpo 1, se proporcionan a continuación.

Tabla 1. Secuencias de aminoácidos de la CDR de cadena ligera

mAb	LCDR1	LCDR2	LCDR3
Anticuerpo 1	RASQSISSFLA (SEQ ID NO: 1)	AASTRAT (SEQ ID NO: 2)	QQYGRSL (SEQ ID NO: 3)

Tabla 2. Secuencias de aminoácidos de la CDR de cadena pesada

mAb	HCDR1	HCDR2	HCDR3
Anticuerpo 1	GNSATWN (SEQ ID NO: 6)	RTYYRSKWNHDYAESVKS (SEQ ID NO: 7)	GDSSSWYAFDY (SEQ ID NO: 8)

Tabla 3. Secuencias de aminoácidos de LCVR, HCVR, cadena pesada y cadena ligera

mAb	LCVR	HCVR	Cadena ligera (secuencia señal en los restos 1-19)	Cadena pesada (secuencia señal en los restos 1-19)
Anticuerpo 1	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 12	SEQ ID NO: 14

Ejemplo 2

En el siguiente ejemplo, se describen experimentos que conducen al esclarecimiento del epítipo en el receptor VEGFR-3 al cual se unen el Anticuerpo 1 y el Anticuerpo 2.

Producción de VEGF-C_{ΔNΔC} y de sR3-AP de ratón y ser humano. Se generó VEGF-C_{ΔNΔC} maduro recombinante como se describe en Pytowski y col. (2005) J. Natl. Cancer Inst. 9.7(1): 14-21. Las regiones extracelulares solubles de longitud completa (es decir, los dominios 1-7 de Ig) del VEGFR-3 de ser humano y de ratón (sR3) se fusionaron

con el ADNc que codificaba la fosfatasa alcalina (AP) humana para generar la proteína de fusión sR3-AP (Persaud y col. (2004) J. Cell Science 117: 2745-56; Pytowski, et al. (2005) J. Natl. Cancer Inst. 97(1): 14-21).

5 *Producción de la proteína de fusión sR3-AP quimérica de ratón-humano y mutantes dirigidos a sitio de sR3-AP.* Se prepararon construcciones quiméricas de humano-ratón y ratón-humano de los dominios similares a inmunoglobulina (Ig) N terminales de sR3-AP usando la técnica de PCR solapante (Ho y col., (1989), Gene 77: 51-59) y se clonaron en el vector de expresión AP (Persaud y col., citados anteriormente; Pytowski y col., citados anteriormente). Se realizó mutagénesis dirigida a sitio de sR3-AP usando el Kit de Mutagénesis Dirigida a Sitio de QuickChange II XL siguiendo las instrucciones del fabricante (Stratagene). La presencia de sustituciones deseadas se verificó por secuenciación de ambas cadenas del ADNc a través de la región mutada usando el analizador Genético ABI Prism 3100 (Applied Biosystems) y el Kit de Secuenciación de Ciclo BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems).

15 *Expresión de proteínas VEGFR-3 solubles:* El ADNc que codificaba las regiones extracelulares de sR3-AP de tipo silvestre y mutada se transfectó en células 293 FreeStyle™ (Invitrogen, n.º R79007) cultivadas en suspensión en un Medio de Expresión químicamente definido, sin proteínas, FreeStyle™ (Invitrogen, n.º 12338026). En algunos casos, la sR3-AP seleccionada se purificó usando cromatografía de afinidad con el anticuerpo anti-AP como se ha descrito anteriormente (Zhu y col., (1998) Cancer Res. 58: 3209-14) o mediante cromatografía de afinidad con los mAb Anticuerpo 1 y Anticuerpo 2 inmovilizados, descritos en el presente documento.

20 *Normalización de proteínas sR3 en medio acondicionado (MA):* La actividad de la fosfatasa alcalina del MA se ensayó usando el kit de Quimioluminiscencia SEAP Great EscAPe™ 2.0 (Clontech, Mountain View, CA) usando el luminómetro Tropix TR7171 (Applied Biosystems, Foster City, CA). El MA se diluyó en proporción a su actividad AP en solución salina tamponada con fosfato (PBS) que contenía albúmina de suero bovino al 1 % (PBS-BSA) y volvió a ensayarse para verificar la normalización mediante mediciones de actividad de la AP y mediante transferencia Western.

25 *Ensayos de unión de sR3-AP:* Cien (100) \square 1 de MA normalizado se transfirieron a placas de microtitulación de 96 pocillos revestidas bien con VEGF-C_{ANAC}, o con el compuesto de ensayo (200 ng/pocillo). Después de 2 h de incubación, las placas se lavaron 5 veces y la sR3-AP unida se detectó con quimioluminiscencia.

30 La especificidad de unión del Anticuerpo 1 y de un anticuerpo monoclonal de rata de referencia contra VEGFR-3 de ratón (denominado "Anticuerpo 2") se ensayó con ELISA usando las partes extracelulares inmovilizadas del VEGFR-3 de ratón y ser humano (dominios Ig 1-7). El Anticuerpo 1 y el Anticuerpo 2 se unen fuertemente y de una manera dependiente de la dosis al VEGFR-3 de ser humano y ratón respectivamente. El Anticuerpo 1 del anticuerpo humano mostró reactividad cruzada leve, aunque reproducible, con el VEGFR-3 de ratón a concentraciones que superaban 10 nM. En cambio, el Anticuerpo 2 no demostró ninguna unión detectable con el VEGFR-3 de ser humano.

35 *Los epítomos del Anticuerpo 1 y Anticuerpo 2 están completamente contenidos dentro del segundo dominio similar a inmunoglobulina (Ig) del VEGF-3:* Los sitios de unión a ligando de los tres miembros de la familia de receptores del VEGF están contenidos dentro de los tres dominios Ig N-terminales del dominio extracelular. La especificidad de las especies del Anticuerpo 1 y Anticuerpo 2 se utiliza para determinar cuál de los tres primeros dominios de Ig contiene los epítomos de estos anticuerpos. Las secuencias de ADN que codifican los dominios 1-3 de Ig de ratón y ser humano permutaron en diversas combinaciones para formar las siguientes construcciones de dominio extracelular de VEGFR-3: i) humano tipo silvestre; ii) ratón tipo silvestre; iii) quimera 1 (Ig1 humana-Ig2 humana-Ig3 ratón); 40 quimera 2 (Ig1 humana-Ig2 ratón-Ig2 ratón); (iv) quimera 3 (Ig1 humana-Ig2 ratón-Ig3 ratón) y (v) quimera 4 (Ig1 humana-Ig2 ratón-Ig3 humana). Las construcciones se expresaron como proteínas de fusión con fosfatasa alcalina (AP) Persaud y col., citados anteriormente. Las proteínas codificadas se aislaron de los medios acondicionados (MA) de células transfectadas de manera transitoria y se normalizaron a la misma concentración de proteínas y actividad AP. La sR3-AP de ratón y ser humano se unieron a VEGF-C_{ANAC} humano con similar afinidad. Por tanto, la capacidad de las diversas quimeras de sR3-AP para unirse a VEGF-C_{ANAC} humano se ensayó como un medio para 45 determinar que se conserva el plegamiento correcto de la proteína en los receptores quiméricos. La capacidad del Anticuerpo 1 y Anticuerpo 2 para unirse a las proteínas quiméricas 1 a 4 muestra que los epítomos del Anticuerpo 1 y Anticuerpo 2 están completamente contenidos dentro del segundo dominio de Ig (Ig2) del VEGFR-3 de ser humano y ratón respectivamente. Por ejemplo, el Anticuerpo 1 no se unirá a la quimera 2 o quimera 4, que contiene la 50 secuencia del VEGFR-3 de ratón en el dominio 2 de Ig.

Identificación de aminoácidos de VEGFR-3 que constituye los epítomos del Anticuerpo 1 y Anticuerpo 2: Se identificaron las doce (12) posiciones dentro de la secuencia de aminoácidos del segundo dominio Ig del VEGFR-3 que diferían entre las proteínas de ser humano y ratón. En la tabla 4 se muestran estas posiciones, junto con los restos en las proteínas de ser humano y ratón.

55

Tabla 4

Posición	153	167	175	177	184	192	194	199	214	219	221
ser humano	A	V	V	W	V	L	S	H	D	P	L
ratón	S	I	A	H	L	R	P	R	N	L	V

5 Para cambiar individualmente cada uno de los aminoácidos específicos de especie en la secuencia de ser humano y ratón con respecto al ortólogo correspondiente en las especies opuestas, se usó mutagénesis dirigida a sitio; cada proteína mutada se expresó después en el contexto de proteínas sR3-AP que codifican el primer, segundo y tercer dominio de Ig. El mapeo epitópico se realizó mediante dos estrategias complementarias. En la primera estrategia, se midió la pérdida de unión del Anticuerpo 1 específico de ser humano y del Anticuerpo 2 específico de ratón con su respectiva sR3-AP de ser humano y ratón debido a sustituciones de aminoácidos individuales con los ortólogos de ser humano y ratón. Con la segunda estrategia, se midió la ganancia de unión del Anticuerpo 1 y Anticuerpo 2 con sR3-AP de las especies opuestas mediada por sustituciones de aminoácidos individuales con los ortólogos de ratón y ser humano. Se consideraba que un resto era un fuerte candidato que constituye una parte de un epítipo de un anticuerpo si las mutaciones anteriores descritas conducían a una pérdida de unión con la primera estrategia y a una ganancia de unión con la segunda estrategia. En todas las proteínas mutantes, se midió la unión a VEGF-C_{ΔNAC} en paralelo para verificar frente a cambios importantes en la estructura de la proteína.

15 Se realizaron experimentos de unión por triplicado y los resultados se calcularon como el promedio y la desviación típica de tres experimentos individuales. De las 12 sustituciones examinadas en el dominio Ig2 de la sR3-AP humana, solo uno (V184L) condujo a una pérdida completa de unión tanto al VEGF-C_{ΔNAC} como al Anticuerpo 1. Por tanto este cambio se consideró como una alteración de la estructura global de la sR3-AP humana. La sustitución de V175A condujo a una pérdida de unión de aproximadamente 50 % con VEGF-C y con el Anticuerpo 1. La sustitución de P219L produjo una pérdida de unión de aproximadamente 75 % con VEGF-C y una pérdida casi completa (~95 %) de unión al Anticuerpo 1. El cambio de L221 a V no afectó a la unión de la sR3-AP humana con VEGF-C pero redujo la unión al Anticuerpo 1 en aproximadamente un 55 %. Las restantes sustituciones no condujeron a una pérdida sustancial de unión a ninguno de VEGF-C o Anticuerpo 1.

25 Cuando se examinaron las mutaciones individuales de ratón por las de ser humano en la sR3-AP de ratón para aumentar la unión con el Anticuerpo 1 específico de ser humano, se observó un aumento significativo por debajo de la unión con la sR3-AP de tipo silvestre de ratón para las sustituciones A175V (~2 veces) y L219P (~60 veces). Ninguna de las otras sustituciones condujo a un aumento significativo de unión por encima del fondo.

30 Por tanto, se establecen criterios para considerar un aminoácido que comprende un epítipo para el Anticuerpo 1 en el que la sustitución del ortólogo de ser humano por ratón en la sR3-AP humana significaría reducir la unión al Anticuerpo 1, al mismo tiempo que se reduce (pero NO se anula) o se deja sin afectar la unión con VEGF-C_{ΔNAC}. Además, para un aminoácido que comprende un epítipo para el Anticuerpo 1, la sustitución del ortólogo de ratón por ser humano en la sR3-AP de ratón conduciría a una unión significativa con el Anticuerpo 1. Para el Anticuerpo 1, estos criterios se satisfacen mediante V175 y P219 de la sR3-AP humana. V184 se excluye porque una sustitución en la sR3-AP humana con el ortólogo de ratón anula tanto la unión con VEGF-C_{ΔNAC} como con el Anticuerpo 1 mientras que la sustitución correspondiente en la sR3-AP de ratón con el ortólogo humano en esa posición no conduce a la unión con el Anticuerpo 1. El cambio de leucina 221 en la sR3-AP humana con la valina murina correspondiente reduce la unión con el Anticuerpo 1 al 55 %. Sin embargo, la sustitución correspondiente en sR3-AP de ratón con el ortólogo humano en esta posición no conduce a la unión con el Anticuerpo 1. Por lo tanto L221 puede hacer una contribución minoritaria en el epítipo del Anticuerpo 1 pero no cumple todos los criterios establecidos anteriormente.

40 Para estudiar la función del resto en la posición 221 adicionalmente, las mutaciones P219L y L221 V en sR3-AP de ser humano, se combinan en una sola construcción. La unión del mutante doble con el Anticuerpo 1 se anula esencialmente en comparación con el mutante P219L sencillo que conserva el 5 % de unión con la sR3-AP humana.

45 Considerados en su conjunto, estos resultados identifican P219 como el constituyente dominante y V175 como el constituyente subordinado del epítipo del Anticuerpo 1 en el VEGFR-3 humano y suscita la posibilidad de que L221 es también un componente minoritario del epítipo.

50 Después se realizó un examen mediante el cual los restos del dominio 2 de Ig del VEGFR-3 de ratón constituyen el epítipo del Anticuerpo 2 usando un procedimiento similar. De nuevo, se realizaron experimentos de unión por triplicado y los resultados se calcularon como el promedio y desviación típica de tres experimentos independientes. De las doce sustituciones individuales que cambian el aminoácido de ratón en el aminoácido humano correspondiente, cuatro sustituciones (H177W, P194S, R199H y N214D) reducen significativamente la unión de la sR3-AP de ratón tanto con VEGF-C como con el Anticuerpo 2. Cabe destacar que, las mutaciones en las posiciones 219 y 221 (L219P y V221L) reducen la unión con el Anticuerpo 2 pero no con VEGF-C. Las mutaciones

correspondientes de humano por ratón en VEGFR-3 en las posiciones 219 y 221 (P219L y L221V) permiten la unión del Anticuerpo 2 con la sR3-AP humana a niveles, respectivamente aproximadamente 55 veces y 10 veces, mayores de la unión del Anticuerpo 2 con la secuencia humana de tipo silvestre. También se demostró que la unión de las proteínas mutantes de ratón que contenían el aminoácido ortólogo humano en las posiciones 219 y 221 con VEGF-C_{ΔNAC} aumenta ligeramente o no se ve afectada mientras que la unión de estas proteínas mutantes con el Anticuerpo 2 se anula (219) o reduce aproximadamente un 85 % (221).

Los criterios establecidos para considerar que un aminoácido comprende un epítipo para el Anticuerpo 2 es que la sustitución del ortólogo humano en sR3-AP de ratón reduciría significativamente la unión con el Anticuerpo 2 aunque reduciría (pero NO anularía) o dejaría sin afectar la unión con VEGF-C_{ΔNAC}. Además, para un aminoácido que comprende un epítipo para el Anticuerpo 2, la sustitución del ortólogo de ser humano por ratón en la sR3-AP humana conduciría a una unión significativa con el Anticuerpo 2. Para el Anticuerpo 2, estos criterios se satisfacen mediante P219 y L221 de la sR3-AP de ratón.

Otro procedimiento para expresar los datos es calcular el porcentaje de unión máxima del Anticuerpo 2 con sR3-AP de tipo silvestre de ratón que se reconstituye mediante cada una de las mutaciones ortólogas individuales de humano por ratón dentro de la secuencia de sR3-AP humana. Esto demuestra que sustituyendo individualmente P219L y L221V con la secuencia de sR3-AP humana se produciría la reconstitución de aproximadamente 5 % y 1 % respectivamente de la unión máxima con el Anticuerpo 2 observada con la sR3-AP de tipo silvestre de ratón. Por lo tanto, se llega a la conclusión de que L219 y V221 son constituyentes del epítipo del Anticuerpo 2.

Puede observarse que el Anticuerpo 1 y el Anticuerpo 2 se unen a epítopos muy similares en el VEGFR-3 humano y en el VEGFR-3 de ratón respectivamente, siendo en cada caso el resto clave el que está en la posición 219. Los datos de los siguientes ejemplos demuestran que tanto el Anticuerpo 1 como el Anticuerpo 2 son anticuerpos neutralizantes que pueden bloquear la actividad de sus antígenos respectivos, así como inhibir el crecimiento tumoral en modelos de xenoinjerto *in vivo*. Dichos datos proporcionan pruebas adicionales para demostrar que el nuevo epítipo en el dominio Ig2 del VEGFR-3 identificado en el presente documento proporciona la característica ventajosa clave de ser un epítipo neutralizante. Los anticuerpos que se unen a dicho epítipo tienen, por tanto, la capacidad de bloquear la unión con el ligando, la señalización del VEGFR-3 y de inhibir el crecimiento tumoral *in vivo*.

Ejemplo 3: Mediciones de afinidad (K_d) para los anticuerpos anti-VEGFR-3

Los parámetros cinéticos de unión del Anticuerpo 1 se miden mediante resonancia de plasmón superficial en el biosensor BIACORE[®] 2000 (BIACORE[®], Piscataway, NY) a 20 °C. El dominio extracelular soluble del VEGFR-3 humano (sR3-AP) se inmoviliza en una microplaca detectora y el Anticuerpo 1 se inyecta sobre la superficie del sensor a concentraciones entre 0,8 y 6,25 nM. Los sensogramas se evalúan usando el programa BIA Evaluation 3.2 para determinar la velocidad de asociación (k_a) y la velocidad de disociación (k_d). La constante de disociación (K_d) se calcula a partir de las velocidades k_a y k_d usando la ecuación: $K_d = k_d/k_a$. Los análisis cinéticos BIACore producen un valor K_d de 56 pM para la unión del Anticuerpo 1 con la sR3-AP inmovilizada. Por tanto, el Anticuerpo 1 tiene una afinidad extremadamente elevada por el VEGFR-3 humano en el que dicha afinidad es casi 2 órdenes de magnitud mayor que la de sR3-AP por VEGF-C_{ΔNAC}.

Ejemplo 4. Bloqueo de la unión de VEGF-C con VEGFR-3 mediante anticuerpos anti-VEGFR-3

Para medir la capacidad de los anticuerpos VEGFR-3 para bloquear la unión de VEGF-C con VEGFR-3 humano, se utilizó un ensayo de bloqueo competitivo de VEGF-C. Se mezclaron anticuerpos o partículas de fagos solubles a una concentración de 0,001 μg/ml a 5 μg/ml con 50 ng de sR3-AP, se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora y se transfirió a placas de microtitulación de 96 pocillos cubiertas con VEGF-C_{ΔNAC} (200 ng/pocillo). Después de 2 horas más, las placas se lavaron cinco veces y se añadió p-nitrofenil fosfato (Sigma) para cuantificar la unión de las moléculas sR3-AP a una DO_{405 nm}. Se calculó la CI₅₀, es decir, la concentración de Fab o de IgG necesaria para una inhibición del 50 % de la unión de sR3-AP con VEGF-C_{ΔNAC}. Las formas Fab e IgG del Anticuerpo 1 bloquearon fuertemente la unión de sR3-AP a VEGF-C_{ΔNAC} inmovilizado con un valor de CI₅₀ de 2 y 1,3 nM, respectivamente. En cambio, un anticuerpo de control que se dirige al receptor de IGF humano y que se obtiene de la misma fagoteca es inactivo.

Ejemplo 5: Inhibición de la respuesta mitogénica estimulada por VEGF-C_{ΔNAC} por el Anticuerpo 1

Para ensayar la capacidad del Anticuerpo 1 para inhibir la transducción de señal mediada por VEGFR-3, se preparó una línea celular NIH-3T3 que expresaba una forma quimérica de VEGFR-3 que fusionaba el dominio extracelular del VEGFR-3 humano con los dominios transmembrana y citoplasmáticos de cFMS humano. No se detectó expresión endógena del VEGFR-3 por las células parentales y la localización del receptor quimérico en la membrana plasmática se muestra mediante análisis FACS. Se sembraron células FMS-VEGFR-3 (5 x 10³ células/pocillo) en placas de cultivo tisular de 96 pocillos (Wallac, Gaithersburg, MD) en 200 ml de medio aséptico y se incubaron a una temperatura de 37 °C durante 72 horas. Se añadió anticuerpo hasta 20 nM y se preincubó a 37 °C durante 1 hora, después de lo cual se añadió VEGF-C_{ΔNAC} a una concentración final de 20 ng/ml. Después de 18 horas de incubación, a cada pocillo se añadieron 0,25 mCi de timidina marcada con tritio ([³H]-TdR) (Amersham) y se incubó

durante 4 horas más. Las células se colocaron en hielo, se lavaron una vez con medio que contenía suero, se incubaron durante 10 minutos a 4 °C con TCA al 10 % y se solubilizaron en 25 ml de SDS al 2 %. La radioactividad incorporada se determinó en un contador de centelleo (Contador de Centelleo Wallac, Modelo 1450 Microbeta). La incorporación de [³H]-TdR mediante las células NIH-3T3 que expresaban el VEGFR-3-cFMS se estimuló con al menos tres veces con la adición de VEGF-C_{ΔNΔC}. La respuesta mitogénica se bloqueó específicamente de una manera dependiente de la dosis por el Anticuerpo 1, con un valor de CI₅₀ de 5 nM.

Ejemplo 6: Anticuerpos monoclonales anti-VEGFR-3 en un modelo de xenoinjerto subcutáneo de la línea celular de carcinoma de ovario humano

En este experimento, se usaron los anticuerpos monoclonales anti-VEGFR-3, Anticuerpo 1 y Anticuerpo 2, solos o en combinación, en xenoinjertos de la línea celular de carcinoma de ovario humano OVCAR-8 (NCI-60, Developmental Therapeutics Program, NCI/NIH) en ratones SCID inmunodeficientes. La línea celular OVCAR-8 es una de las poquísimas líneas celulares de carcinoma humano que expresan el VEGFR-3 humano. Lo que se espera con este experimento es que el Anticuerpo 2 bloquee la angiogénesis y la linfangiogénesis en el estroma de ratón del tumor en crecimiento, sin tener al mismo tiempo efectos sobre el tumor. En cambio, se espera que el Anticuerpo 1 actúe solo en las células de carcinoma humano.

En el costado izquierdo de 75 ratones hembra atímicas se inyectaron células OVCAR-8 por vía s.c. a 1×10^7 células/ratón. Cuando los tumores alcanzaron $\sim 180 \text{ mm}^3$, 13 días después del implante celular, los ratones se asignaron al azar y se dividieron en cinco grupos de tratamiento (n = 12): control con solución salina UPS, 0,5 ml/dosis; IgG de Rata a 40 mg/kg; Anticuerpo 1 a 40 mg/kg; Anticuerpo 2 a 40 mg/kg y Anticuerpo 1 a 40 mg/kg + Anticuerpo 2 a 40 mg/kg. Los mAb anti-VEGFR-3 y los controles se proporcionaron por vía i.p. en un programa Mon-Wed-Fri. Las mediciones tumorales se registraron dos veces al día. El valor de % T/C en cada grupo de tratamiento se calculó como la proporción del volumen tumoral relativo de cada grupo de tratamiento frente al volumen tumoral relativo del grupo control tratado con solución salina. Para comparar el crecimiento tumoral entre los grupos de tratamiento se usó ANOVA con MR hasta el Día 41.

El Anticuerpo 2 inhibe significativamente el crecimiento de tumores OVCAR-8 con un valor de % T/C de 71 % (P = 0,0299). El Anticuerpo 1 tenía una tendencia hacia la eficacia en este modelo (el valor de % T/C fue de 74 %) pero el grado de inhibición tumoral no alcanzó significado (P > 0,05). Esto puede deberse a la amplia serie de volúmenes tumorales el Día 41 en este grupo ($335\text{-}1504 \text{ mm}^3$) que puede impedir que este grupo alcance un significado estadístico.

La combinación simultánea del Anticuerpo 1 y del Anticuerpo 2 potencia el efecto inhibitor tumoral del Anticuerpo 2 (el % T/C fue de 47 % y el efecto del combinación alcanzó un significado en comparación con cualquier anticuerpo solo (P ≤ 0,0358)).

El Anticuerpo 2 inhibe significativamente el crecimiento de tumores OVCAR-8 mientras que el Anticuerpo 1 parece ser eficaz en este modelo sin alcanzar un significado estadístico. Sin embargo, dado que la combinación de los dos anticuerpos monoclonales inhibe significativamente el crecimiento tumoral OVCAR-8 en comparación con la monoterapia con Anticuerpo 2, se llega a la conclusión de que el Anticuerpo 1 demuestra eficacia terapéutica en este experimento. Por consiguiente, los anticuerpos de la presente invención demuestran eficacia antitumoral en un modelo *in vivo* de cáncer de ovario.

Ejemplo 7: Anticuerpo 1 mAb anti-VEGFR-3 en el modelo de xenoinjerto subcutáneo con células eritroleucémicas humanas (ELH)

En el siguiente experimento, se mide un efecto antitumoral significativo para el Anticuerpo 1 en el modelo de xenoinjerto subcutáneo con células eritroleucémicas humanas (ELH).

Ratones Nu/nu (hembras, 7-8 semanas) instaladas en grupos de 5-6 por jaula, recibieron una inyección subcutánea de 5×10^6 células ELH/ratón. Cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 400 mm^3 , los ratones se asignaron al azar por volumen tumoral en uno de los cuatro grupos de tratamiento (n=11/grupo):

- 1) solución salina USP, 10 ml/kg,
- 2) Anticuerpo 1, 60 mg/kg (dosis de carga de 150 mg/kg el Día 1)
- 3) Anticuerpo 1, 20 mg/kg (dosis de carga de 50 mg/kg el Día 1)
- 4) Anticuerpo 1, 6 mg/kg (dosis de carga de 15 mg/kg el Día 1)

El Anticuerpo 1 se preparó en solución salina USP. Los tratamientos se administraron por vía i.p., dos veces a la semana, a una solución de dosificación de 10 ml/kg de peso corporal. La primera dosis, la dosis de carga, se administró el Día 1, seguido de la dosis de mantenimiento administrada dos veces a la semana durante el estudio. Los volúmenes tumorales se midieron dos veces a la semana. Los pesos corporales se registraron al menos dos veces a la semana durante el estudio. El día 18, en cada grupo de tratamiento, se calculó el valor de % T/C como la proporción del volumen tumoral relativo de cada grupo de tratamiento frente al volumen tumoral relativo del grupo de control tratado con solución salina (Tabla 5). El cambio de crecimiento tumoral y de peso corporal en los grupos de tratamiento se comparó usando ANOVA con Medidas Repetidas.

El tratamiento con el Anticuerpo 1 produjo una inhibición dependiente de la dosis del crecimiento tumoral de ELH, con 60 mg/kg de Anticuerpo 1 que inhibió de manera significativa ($p=0,0031$) el crecimiento tumoral. En este estudio (Tabla 5) no hubo ningún efecto sobre el peso corporal con el tratamiento del Anticuerpo 1. Por consiguiente, los anticuerpos de la presente invención demostraron eficacia antitumoral en un modelo *in vivo* de ELH, produciendo al mismo tiempo efectos secundarios adversos mínimos en ese modelo.

Tabla 5

	% T/C el Día 18	ANOVA con MR para el Volumen Tumoral	Cambio de % de Peso Corporal Medio Final	ANOVA con MR para el Peso Corporal
Control con Solución Salina			6,6	
Anticuerpo 1 60 mg/kg	52,5	0,0031	4,6	0,21
Anticuerpo 1 20 mg/kg	69,6	0,13	3,2	0,20
Anticuerpo 1 6 mg/kg	81,9	0,39	4,6	0,41

Ejemplo 8: Anticuerpo 2 mAb anti-VEGFR-3 en combinación con cisplatino en el modelo de xenoinjerto de carcinoma de células escamosas CAL27

10 Para ensayar la actividad de los anticuerpos anti-VEGFR-3 en cáncer de cabeza y cuello, se usó el modelo de xenoinjerto con CAL27. Por vía s.c., en el costado izquierdo de 60 ratones hembra atímicas, se inyectó una suspensión de células CAL27 a 1×10^7 células/ratón. Cuando los tumores alcanzaron $\sim 180 \text{ mm}^3$, ocho días después del implante celular, los ratones se asignaron al azar y se dividieron en cuatro grupos de tratamiento ($n = 12$): 1) control con solución salina USP, 0,5 ml i.p., 3 días a la semana; 2) Anticuerpo 2 a 40 mg/kg, 3 días a la semana; 3) cisplatino a 7 mg/kg, c7d; 4) Anticuerpo 2 a 40 mg/kg, 3 días a la semana + cisplatino a 7 mg/kg, c7d.

Las mediciones tumorales se registraron dos veces a la semana; para comparar el crecimiento tumoral entre los grupos de tratamiento se usó ANOVA con MR hasta el Día 61. Para ensayar el significado estadístico en el número de regresiones tumorales entre los grupos de tratamiento se usó el ensayo de Chi Cuadrado.

20 La monoterapia usando el Anticuerpo 2 o cisplatino inhibió significativamente el crecimiento de tumores CAL27 en comparación con el control de solución salina USP ($P \leq 0,0077$). Los valores de % T/C fueron de 55 % y de 39 % para el Anticuerpo 2 y para el cisplatino, respectivamente. La terapia de combinación tanto con el Anticuerpo 2 como con el cisplatino produjo una inhibición significativa del crecimiento tumoral cuando se comparó con la monoterapia ($P \leq 0,0322$). El efecto de la terapia de combinación es mayor que el aditivo, determinado mediante el Procedimiento de Producto Fraccional. Por consiguiente, un anticuerpo anti-VEGFR-3 que se une a un epítipo en el dominio Ig2 del VEGFR-3 demuestra eficacia antitumoral en un modelo *in vivo* de cáncer de cabeza y cuello bien como una monoterapia o en combinación con cisplatino.

Ejemplo 9: Anticuerpo 2 mAb anti-VEGFR-3 en combinación con 5-Fluorouracilo / Leucovorina en un modelo de xenoinjerto de cáncer de mama MDA-MB-231

30 Para ensayar la actividad de los anticuerpos anti-VEGFR-3 en cáncer de mama, se usó el modelo de xenoinjerto MDA-MB-231. Ratones hembra NIH nu/nu atímicas (hembras de 8 semanas) recibieron una inyección subcutánea de 6×10^6 células MDA-MB-231 en 0,4 ml (1:1 p/Matrigel) en el pániculo adiposo mamario. Cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 300 mm^3 , los ratones se asignaron al azar por tamaño tumoral en los siguientes grupos de tratamiento ($n = 12$): 1) solución salina USP 10 $\mu\text{l/g}$, 3 veces a la semana; 2) Anticuerpo 2 40 mg/kg, 3 veces a la semana; 3) 5FU (5-Fluorouracilo) 125 mg/kg + LV (Leucovorina) 62 mg/kg, una vez a la semana; 4) Anticuerpo 2 a 40 mg/kg, 3 veces a la semana + 5FU/LV a 125 mg/kg y 62 mg/kg respectivamente, una vez a la semana. Todos los agentes se prepararon el día del tratamiento y se administraron por vía i.p. El tratamiento citotóxico comenzó un día antes de iniciar el tratamiento con el anticuerpo.

40 Una comparación de los volúmenes tumorales del grupo de control tratado con solución salina frente a los volúmenes tumorales de los ratones tratados, mostró una inhibición significativa del crecimiento tumoral con la administración del Anticuerpo 2 o del Anticuerpo 2 + 5FU/LV (véase la Tabla 6). Aunque los efectos de la

combinación del Anticuerpo 2 + 5-FU/LV no son mayores que los de las monoterapias, para la combinación hay una tendencia hacia efectos antitumorales aumentados. Por consiguiente, un anticuerpo anti-VEGFR-3 que se une a un epítipo en el dominio Ig2 de VEGFR-3 demuestra eficacia antitumoral en un modelo *in vivo* de cáncer de mama (en comparación con un control de solución salina) bien como una monoterapia o en combinación con 5FU/LV.

5

Tabla 6

	Volúmenes Tumorales	
	Valor de p^1	% T/C
Anticuerpo 2 frente a solución salina USP	$p=0,04$	49
5FU/LV frente a solución salina USP	$p=0,17$	52
Anticuerpo 2 + 5FU/LV frente a solución salina USP	$p<0,01$	28
Anticuerpo 2 frente a Anticuerpo 2 + 5FU/LV	$p=0,09$	57
5FU/LV frente a Anticuerpo 2 + 5FU/LV	$p=0,09$	54
¹ ANOVA con MR hasta el Día 34		

Ejemplo 10: Anticuerpo 2 mAb anti-VEGFR-3 solo o en combinación con Docetaxel en un modelo de xenoinjerto de cáncer de pulmón NCI-H292

Para ensayar la actividad de los anticuerpos anti-VEGFR-3 en cáncer de pulmón, se usó el modelo de xenoinjerto NCI-H292. Ratones nu/nu (hembra, 7-8 semanas de vida) recibieron una inyección subcutánea de 2×10^6 NCI-H292 células/ratón. Cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 300 mm^3 , los ratones se asignaron al azar por tamaño tumoral en los siguientes grupos de tratamiento (n=15): 1) solución salina USP a $10 \mu\text{l/g}$, 3 veces a la semana, i.p., comenzando el día 2; 2) Anticuerpo 2 a 40 mg/kg , 3 veces a la semana, i.p., comenzando el día 2; 3) Docetaxel a 12 mg/kg , c7d, comenzando el día 1; 4) Docetaxel a 12 mg/kg , c7d, comenzando el día 1 más Anticuerpo 2 a 40 mg/kg , 3 veces a la semana, comenzando el día 2.

Los volúmenes tumorales se midieron aproximadamente dos veces a la semana y los pesos corporales se registraron al menos dos veces a la semana durante el estudio. A la hora del sacrificio, los ratones se sometieron a eutanasia por asfixia con CO_2 . En cada grupo de tratamiento, se calculó el valor de % T/C como la proporción de volumen tumoral relativo en los grupos experimentales frente al grupo control. El crecimiento tumoral y los pesos corporales se compararon con los del grupo control mediante ANOVA con medidas repetidas hasta el Día 26.

El tratamiento con el Anticuerpo 2 y con Docetaxel inhibió significativamente el crecimiento tumoral NCI-H292 con valores de % T/C de 74 % y 49 %, respectivamente. La terapia de combinación del Anticuerpo 2 y Docetaxel aumentó significativamente la eficacia antitumoral en comparación con cualquier monoterapia con un valor de %T/C de 24 %. Por consiguiente, un anticuerpo anti-VEGFR-3 que se une a un epítipo en el dominio Ig2 del VEGFR-3 demuestra eficacia antitumoral en un modelo *in vivo* adicional de cáncer de pulmón bien como una monoterapia ($p<0,0001$) o en combinación con Docetaxel ($p<0,0001$).

Ejemplo 11. Anticuerpo 2 mAb anti-VEGFR-3 en un modelo de xenoinjerto de carcinoma de células renales (CCR) humano SK-RC-29 subcutáneo

Para ensayar la actividad de los anticuerpos anti-VEGFR-3 en CCR, se usó el modelo de xenoinjerto de Carcinoma de Células Renales Humano SK-RC-29. Ratones hembra nu/nu atímicas (n = 12 por grupo) recibieron un implante, por vía subcutánea, de 2×10^6 células CCR SK-RC-29 por ratón. Las células se inyectaron con una mezcla en membrana basal 1:1 de Matrigel® ($V_f = 0,4 \text{ ml}$). Cuando los tumores alcanzaron $200 - 250 \text{ mm}^3$, los ratones se asignaron al azar en grupos y se inició la dosis i.p. con el grupo de control que recibió solución salina USP ($500 \mu\text{l}$ /inyección) y el grupo con Anticuerpo 2 que recibió una primera dosis de 60 mg/kg y de 40 mg/kg en todas las dosis posteriores. Las mediciones tomadas de los volúmenes tumorales se registraron dos veces a la semana durante 43 días. Para el análisis histológico, se tomaron muestras tumorales representativas (n = 4 por grupo de tratamiento) el día 48 (final del estudio). Para determinar la significación de los efectos antitumorales entre los grupos de tratamiento, se realizó un análisis estadístico usando ANOVA con Medidas Repetidas (MR). En ninguno de los grupos de tratamiento se produjo pérdida de peso, medida el día 47, debido a la toxicidad del anticuerpo. De hecho, el peso de los ratones tratados con el anticuerpo aumentó aproximadamente un 5,5 % en el transcurso del estudio.

Para evaluar la eficacia anti-tumoral y calcular los valores de % T/C, todos los grupos de tratamiento se compararon con los ratones de control hasta el día 32. El Anticuerpo 2 produjo un valor de %T/C de 62 % ($p = 0,012$); esto

demuestra inhibición del crecimiento del carcinoma de células renales en un modelo de xenoinjerto subcutáneo con efectos secundarios adversos mínimos.

Ejemplo 12: Anticuerpo 2 mAb anti-VEGFR-3 en xenoinjertos de carcinoma pancreático BxPC-3

5 Para ensayar la actividad de los anticuerpos anti-VEGFR-3 en carcinoma pancreático, se usó el Xenoinjerto de Carcinoma Pancreático BxPC-3. Ratones hembra nu/nu atímicas ($n = 36$) recibieron por vía s.c. una inyección de 2×10^6 células pancreáticas humanas BxPC-3/ratón mezcladas en Matrigel a una relación 1:1. Cuando los tumores alcanzaron $\sim 350 \text{ mm}^3$, los animales se separaron en tres grupos de tratamiento ($n = 10$): 1) solución salina USP; 2) Anticuerpo 2 mAb a 10 mg/kg; 3) Anticuerpo 2 mAb a 40 mg/kg. Todos los tratamientos se administraron por vía i.p. tres veces a la semana a 0,1 ml/10 g de peso corporal. Las mediciones de los volúmenes tumorales se registraron dos veces a la semana durante seis semanas.

El tratamiento con el Anticuerpo 2 inhibe el crecimiento de tumores BxPC-3 de una manera dependiente de la dosis. Al final del estudio el día 40, los valores de T/C fueron de 75 % ($p=0,042$) y de 56 % ($p=0,002$) para los grupos de dosis de 10 mg/kg y de 40 mg/kg, respectivamente.

15 Ejemplo 13: Anticuerpo 2 mAb anti-VEGFR-3 en combinación con oxaliplatino en xenoinjertos de colon HT-29

Para ensayar la actividad de los anticuerpos anti-VEGFR-3 en cáncer de colon, se usó el modelo de xenoinjerto de Colon HT-29. Se inyectó una suspensión de células HT-29, a 5×10^6 /ratón, por vía subcutánea en el costado izquierdo de 60 ratones hembra atímicas. Cuando los tumores alcanzaron $\sim 180 \text{ mm}^3$, ocho días después del implante celular, los ratones se asignaron al azar y se dividieron en cuatro grupos de tratamiento ($n = 12$): 1) control con solución salina USP, 0,5 ml i.p., tres veces a la semana; 2) Anticuerpo 2 a 40 mg/kg, tres veces a la semana; 3) oxaliplatino a 12 mg/kg, c7d; 4) Anticuerpo 2 a 40 mg/kg, tres veces a la semana + oxaliplatino a 12 mg/kg, c7d.

Las mediciones tumorales se registraron dos veces a la semana; para comparar el crecimiento tumoral entre los grupos de tratamiento se usó ANOVA con MR. El Anticuerpo 2 en solitario, no inhibe significativamente el crecimiento de tumores HT-29; el anticuerpo tiene una tendencia para la eficacia con un valor de % T/C de 80 %. La terapia de combinación tanto con el Anticuerpo 2 como con el oxaliplatino inhibe significativamente el crecimiento de tumores HT-29 en comparación con el control o con cualquier monoterapia ($P \leq 0,0280$) con un valor de % T/C de 47 %. Por consiguiente, un anticuerpo anti-VEGFR-3 que se une a un epítipo en el dominio Ig2 del VEGFR-3 demuestra eficacia antitumoral en un modelo *in vivo* de cáncer de colon cuando se usa en combinación con oxaliplatino.

30 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Eli Lilly and Company
Pytowski, Bronislaw
Zayek, Nathalie
35 Persaud, Krishnadatt

<120> COMPOSICIONES DE ANTICUERPOS ANTI-VEGFR-3

<130> X18726

40 <150> 61/380432
<151> 07-09-2010

<160> 22

45 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

50 <211> 12
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 1

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Ser Phe Leu Ala
55 1 5 10

<210> 2
<211> 7

ES 2 568 801 T3

<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

5 <400> 2

Ala Ala Ser Thr Arg Ala Thr
1 5

10 <210> 3
<211> 8
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 3

15 **Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Leu Ser**
1 5

20 <210> 4
<211> 321
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 4

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctctagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtattagc agcagottot tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaagct cctcatctat gctgcatcca ccagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgctgteta ttactgtcag cagtatggte gctcactctc ttcggcgga 300

gggaccaagg tggaggtcaa a 321

25 <210> 5
<211> 107
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

30 <400> 5

ES 2 568 801 T3

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Ser
 20 25 30

Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Leu
 85 90 95

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Val Lys
 100 105

5 <210> 6
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 6

10 Gly Asn Ser Ala Thr Trp Asn
 1 5

15 <210> 7
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 7

Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Asn His Asp Tyr Ala Glu Ser Val
 1 5 10 15

20 Lys Ser
 <210> 8
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 25 <400> 8

Gly Asp Ser Ser Ser Trp Tyr Ala Phe Asp Tyr
 1 5 10

30 <210> 9

<211> 369
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 9

```

caggtacagc tgcagcagtc aggtccagga ctggtgaagc cctcgcagac tctctcactc      60
acctgtgcc a tctccgggga cagtgtctct ggcaacagtg ctacttgaa ctggatcagg      120
cagtcacctat cgcgaggcct tgagtggctg ggaaggacat attacaggtc caagtggaat      180
catgattatg cagaatctgt gaaaagtcga ataaccatca acccagacac atccaagaac      240
cagttctccc tgcagctgaa ctctgtgact cccgaggaca cggctgtgta ttactgtgca      300
aggggtgata gcagcagctg gtacgccttt gactactggg gccagggcac cctggtcacc      360
gtctcaagc                                     369
    
```

10 <210> 10
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 10

```

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1          5          10          15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Gly Asn
          20          25          30

Ser Ala Thr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
          35          40          45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Asn His Asp Tyr Ala
50          55          60

Glu Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65          70          75          80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
          85          90          95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asp Ser Ser Ser Trp Tyr Ala Phe Asp Tyr
          100          105          110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120
    
```

20 <210> 11
 <211> 702
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 11

ES 2 568 801 T3

```

atgggatggt catgtatcat cctttttcta gtagcaactg caactggagt acattcagaa      60
attgtgttga cgcagtctcc aggcaccctg tctttgtctc taggggaaag agccaccctc      120
tcttgcaggg ccagtcagag tattagcagc agcttcttag cctggtacca gcagaaacct      180
ggccaggctc ccaagctcct catctatgct gcattcacca ggccactgg catcccagac      240
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag actggagcct      300
gaagattttg ctgtctatta ctgtcagcag tatggtcgct cactctcttt cggcggaggg      360
accaaggtgg aggtcaaacg aactgtggct gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct      420
gatgagcagt tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgctgaataa cttctatccc      480
agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag      540
agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg      600
agcaaagcag actacagaaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg      660
agctcgcccc tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt ag                          702

```

5 <210> 12
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 12

```

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1           5           10           15

Val His Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu
           20           25           30

Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile
 35           40           45

```

ES 2 568 801 T3

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

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

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

Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly
100 105 110

Arg Ser Leu Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Val Lys Arg Thr
115 120 125

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

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

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

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

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

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

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 13
<211> 1419
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*
<400> 13

5

ES 2 568 801 T3

atgggatggt catgtatcat cctttttcta gtagcaactg caactggagt acattcacag 60
 gtacagctgc agcagtcagg tccaggactg gtgaagccct cgcagactct ctcaactcacc 120
 tgtgccatct cgggggacag tgtctctggc aacagtgcta cttggaactg gatcaggcag 180
 tccccatcgc gaggccttga gtggctggga aggacatatt acaggtccaa gtggaatcat 240
 gattatgcag aatctgtgaa aagtcgaata accatcaacc cagacacatc caagaaccag 300
 ttctccctgc agctgaactc tgtgactccc gaggacacgg ctgtgtatta ctgtgcaagg 360
 ggtgatagca gcagctggta cgcctttgac tactggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 420
 tcaagcgeta gcaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg caccctctc caagagcacc 480
 tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 540
 gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 600
 tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660
 cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt 720
 gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 780
 gggggaccgt cagtcttccct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 840
 acccctgagg tcacatgctg ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 900
 aactggtatg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag 960
 tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccaaga ctggctgaat 1020
 ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 1080
 atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1140
 gaggagatga ccaagaacca agtcagcctg acctgctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1200
 gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaaa gaccaagcct 1260
 cccgtgctgg actccgacgg ctccctcttc ctctattcca agctcaccgt ggacaagagc 1320
 aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1380
 tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggcaaatga 1419

<210> 14
 <211> 472
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 14

5

ES 2 568 801 T3

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
20 25 30

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

Ser Gly Asn Ser Ala Thr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg
50 55 60

ES 2 568 801 T3

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

ES 2 568 801 T3

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 325 330 335

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 340 345 350

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 355 360 365

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 370 375 380

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 385 390 395 400

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 405 410 415

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

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 435 440 445

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 450 455 460

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 15
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 15

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Ser
 20 25 30

Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

10

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Leu
85 90 95

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Val Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 16
<211> 453
5 <212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 16

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Gly Asn
20 25 30

Ser Ala Thr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Asn His Asp Tyr Ala
50 55 60

10

ES 2 568 801 T3

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

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 325 330 335

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 340 345 350

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

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 17
 <211> 1363
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 17

Met Gln Arg Gly Ala Ala Leu Cys Leu Arg Leu Trp Leu Cys Leu Gly
 1 5 10 15

Leu Leu Asp Gly Leu Val Ser Gly Tyr Ser Met Thr Pro Pro Thr Leu
 20 25 30

Asn Ile Thr Glu Glu Ser His Val Ile Asp Thr Gly Asp Ser Leu Ser
 35 40 45

Ile Ser Cys Arg Gly Gln His Pro Leu Glu Trp Ala Trp Pro Gly Ala
 50 55 60

Gln Glu Ala Pro Ala Thr Gly Asp Lys Asp Ser Glu Asp Thr Gly Val
 65 70 75 80

5

10

ES 2 568 801 T3

Val Arg Asp Cys Glu Gly Thr Asp Ala Arg Pro Tyr Cys Lys Val Leu
85 90 95

Leu Leu His Glu Val His Ala Asn Asp Thr Gly Ser Tyr Val Cys Tyr
100 105 110

Tyr Lys Tyr Ile Lys Ala Arg Ile Glu Gly Thr Thr Ala Ala Ser Ser
115 120 125

Tyr Val Phe Val Arg Asp Phe Glu Gln Pro Phe Ile Asn Lys Pro Asp
130 135 140

Thr Leu Leu Val Asn Arg Lys Asp Ala Met Trp Val Pro Cys Leu Val
145 150 155 160

Ser Ile Pro Gly Leu Asn Val Thr Leu Arg Ser Gln Ser Ser Val Leu
165 170 175

Trp Pro Asp Gly Gln Glu Val Val Trp Asp Asp Arg Arg Gly Met Leu
180 185 190

Val Ser Thr Pro Leu Leu His Asp Ala Leu Tyr Leu Gln Cys Glu Thr
195 200 205

Thr Trp Gly Asp Gln Asp Phe Leu Ser Asn Pro Phe Leu Val His Ile
210 215 220

Thr Gly Asn Glu Leu Tyr Asp Ile Gln Leu Leu Pro Arg Lys Ser Leu
225 230 235 240

Glu Leu Leu Val Gly Glu Lys Leu Val Leu Asn Cys Thr Val Trp Ala
245 250 255

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

Ala Glu Arg Gly Lys Trp Val Pro Glu Arg Arg Ser Gln Gln Thr His
275 280 285

Thr Glu Leu Ser Ser Ile Leu Thr Ile His Asn Val Ser Gln His Asp
290 295 300

Leu Gly Ser Tyr Val Cys Lys Ala Asn Asn Gly Ile Gln Arg Phe Arg
305 310 315 320

Glu Ser Thr Glu Val Ile Val His Glu Asn Pro Phe Ile Ser Val Glu

ES 2 568 801 T3

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

Ser Cys Gln Ala Asp Ser Tyr Lys Tyr Glu His Leu Arg Trp Tyr Arg
580 585 590

Leu Asn Leu Ser Thr Leu His Asp Ala His Gly Asn Pro Leu Leu Leu
595 600 605

Asp Cys Lys Asn Val His Leu Phe Ala Thr Pro Leu Ala Ala Ser Leu
610 615 620

Glu Glu Val Ala Pro Gly Ala Arg His Ala Thr Leu Ser Leu Ser Ile
625 630 635 640

Pro Arg Val Ala Pro Glu His Glu Gly His Tyr Val Cys Glu Val Gln
645 650 655

Asp Arg Arg Ser His Asp Lys His Cys His Lys Lys Tyr Leu Ser Val
660 665 670

Gln Ala Leu Glu Ala Pro Arg Leu Thr Gln Asn Leu Thr Asp Leu Leu
675 680 685

Val Asn Val Ser Asp Ser Leu Glu Met Gln Cys Leu Val Ala Gly Ala
690 695 700

His Ala Pro Ser Ile Val Trp Tyr Lys Asp Glu Arg Leu Leu Glu Glu
705 710 715 720

Lys Ser Gly Val Asp Leu Ala Asp Ser Asn Gln Lys Leu Ser Ile Gln
725 730 735

Arg Val Arg Glu Glu Asp Ala Gly Arg Tyr Leu Cys Ser Val Cys Asn
740 745 750

Ala Lys Gly Cys Val Asn Ser Ser Ala Ser Val Ala Val Glu Gly Ser
755 760 765

Glu Asp Lys Gly Ser Met Glu Ile Val Ile Leu Val Gly Thr Gly Val
770 775 780

Ile Ala Val Phe Phe Trp Val Leu Leu Leu Leu Ile Phe Cys Asn Met
785 790 795 800

Arg Arg Pro Ala His Ala Asp Ile Lys Thr Gly Tyr Leu Ser Ile Ile
805 810 815

Met Asp Pro Gly Glu Val Pro Leu Glu Glu Gln Cys Glu Tyr Leu Ser
820 825 830

Tyr Asp Ala Ser Gln Trp Glu Phe Pro Arg Glu Arg Leu His Leu Gly
835 840 845

Arg Val Leu Gly Tyr Gly Ala Phe Gly Lys Val Val Glu Ala Ser Ala
850 855 860

Phe Gly Ile His Lys Gly Ser Ser Cys Asp Thr Val Ala Val Lys Met
865 870 875 880

Leu Lys Glu Gly Ala Thr Ala Ser Glu His Arg Ala Leu Met Ser Glu
885 890 895

Leu Lys Ile Leu Ile His Ile Gly Asn His Leu Asn Val Val Asn Leu
900 905 910

Leu Gly Ala Cys Thr Lys Pro Gln Gly Pro Leu Met Val Ile Val Glu
915 920 925

Phe Cys Lys Tyr Gly Asn Leu Ser Asn Phe Leu Arg Ala Lys Arg Asp
930 935 940

Ala Phe Ser Pro Cys Ala Glu Lys Ser Pro Glu Gln Arg Gly Arg Phe
945 950 955 960

Arg Ala Met Val Glu Leu Ala Arg Leu Asp Arg Arg Arg Pro Gly Ser
965 970 975

Ser Asp Arg Val Leu Phe Ala Arg Phe Ser Lys Thr Glu Gly Gly Ala
980 985 990

Arg Arg Ala Ser Pro Asp Gln Glu Ala Glu Asp Leu Trp Leu Ser Pro
995 1000 1005

Leu Thr Met Glu Asp Leu Val Cys Tyr Ser Phe Gln Val Ala Arg
1010 1015 1020

Gly Met Glu Phe Leu Ala Ser Arg Lys Cys Ile His Arg Asp Leu
1025 1030 1035

Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu Ser Glu Ser Asp Val Val Lys Ile
1040 1045 1050

Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Tyr Lys Asp Pro Asp Tyr
1055 1060 1065

Val Arg Lys Gly Ser Ala Arg Leu Pro Leu Lys Trp Met Ala Pro
1070 1075 1080

Glu Ser Ile Phe Asp Lys Val Tyr Thr Thr Gln Ser Asp Val Trp
 1085 1090 1095
 Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe Ser Leu Gly Ala Ser
 1100 1105 1110
 Pro Tyr Pro Gly Val Gln Ile Asn Glu Glu Phe Cys Gln Arg Leu
 1115 1120 1125
 Arg Asp Gly Thr Arg Met Arg Ala Pro Glu Leu Ala Thr Pro Ala
 1130 1135 1140
 Ile Arg Arg Ile Met Leu Asn Cys Trp Ser Gly Asp Pro Lys Ala
 1145 1150 1155
 Arg Pro Ala Phe Ser Glu Leu Val Glu Ile Leu Gly Asp Leu Leu
 1160 1165 1170
 Gln Gly Arg Gly Leu Gln Glu Glu Glu Val Cys Met Ala Pro
 1175 1180 1185
 Arg Ser Ser Gln Ser Ser Glu Glu Gly Ser Phe Ser Gln Val Ser
 1190 1195 1200
 Thr Met Ala Leu His Ile Ala Gln Ala Asp Ala Glu Asp Ser Pro
 1205 1210 1215
 Pro Ser Leu Gln Arg His Ser Leu Ala Ala Arg Tyr Tyr Asn Trp
 1220 1225 1230
 Val Ser Phe Pro Gly Cys Leu Ala Arg Gly Ala Glu Thr Arg Gly
 1235 1240 1245
 Ser Ser Arg Met Lys Thr Phe Glu Glu Phe Pro Met Thr Pro Thr
 1250 1255 1260
 Thr Tyr Lys Gly Ser Val Asp Asn Gln Thr Asp Ser Gly Met Val
 1265 1270 1275
 Leu Ala Ser Glu Glu Phe Glu Gln Ile Glu Ser Arg His Arg Gln
 1280 1285 1290
 Glu Ser Gly Phe Ser Cys Lys Gly Pro Gly Gln Asn Val Ala Val
 1295 1300 1305
 Thr Arg Ala His Pro Asp Ser Gln Gly Arg Arg Arg Arg Pro Glu

ES 2 568 801 T3

1310							1315							1320
Arg	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Gln	Val	Phe	Tyr	Asn	Ser	Glu	Tyr	Gly
	1325					1330					1335			
Glu	Leu	Ser	Glu	Pro	Ser	Glu	Glu	Asp	His	Cys	Ser	Pro	Ser	Ala
	1340					1345					1350			
Arg	Val	Thr	Phe	Phe	Thr	Asp	Asn	Ser	Tyr					
	1355					1360								

<210> 18
<211> 1298
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 18

ES 2 568 801 T3

Met Gln Arg Gly Ala Ala Leu Cys Leu Arg Leu Trp Leu Cys Leu Gly
 1 5 10 15

Leu Leu Asp Gly Leu Val Ser Gly Tyr Ser Met Thr Pro Pro Thr Leu
 20 25 30

Asn Ile Thr Glu Glu Ser His Val Ile Asp Thr Gly Asp Ser Leu Ser
 35 40 45

Ile Ser Cys Arg Gly Gln His Pro Leu Glu Trp Ala Trp Pro Gly Ala
 50 55 60

Gln Glu Ala Pro Ala Thr Gly Asp Lys Asp Ser Glu Asp Thr Gly Val
 65 70 75 80

Val Arg Asp Cys Glu Gly Thr Asp Ala Arg Pro Tyr Cys Lys Val Leu
 85 90 95

Leu Leu His Glu Val His Ala Asn Asp Thr Gly Ser Tyr Val Cys Tyr
 100 105 110

Tyr Lys Tyr Ile Lys Ala Arg Ile Glu Gly Thr Thr Ala Ala Ser Ser
 115 120 125

Tyr Val Phe Val Arg Asp Phe Glu Gln Pro Phe Ile Asn Lys Pro Asp
 130 135 140

Thr Leu Leu Val Asn Arg Lys Asp Ala Met Trp Val Pro Cys Leu Val
 145 150 155 160

Ser Ile Pro Gly Leu Asn Val Thr Leu Arg Ser Gln Ser Ser Val Leu

ES 2 568 801 T3

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

Val Val Asn Val Pro Pro Gln Ile His Glu Lys Glu Ala Ser Ser Pro
 420 425 430

Ser Ile Tyr Ser Arg His Ser Arg Gln Ala Leu Thr Cys Thr Ala Tyr
 435 440 445

Gly Val Pro Leu Pro Leu Ser Ile Gln Trp His Trp Arg Pro Trp Thr
 450 455 460

Pro Cys Lys Met Phe Ala Gln Arg Ser Leu Arg Arg Arg Gln Gln Gln
 465 470 475 480

Asp Leu Met Pro Gln Cys Arg Asp Trp Arg Ala Val Thr Thr Gln Asp
 485 490 495

Ala Val Asn Pro Ile Glu Ser Leu Asp Thr Trp Thr Glu Phe Val Glu
 500 505 510

Gly Lys Asn Lys Thr Val Ser Lys Leu Val Ile Gln Asn Ala Asn Val
 515 520 525

Ser Ala Met Tyr Lys Cys Val Val Ser Asn Lys Val Gly Gln Asp Glu
 530 535 540

Arg Leu Ile Tyr Phe Tyr Val Thr Thr Ile Pro Asp Gly Phe Thr Ile
 545 550 555 560

Glu Ser Lys Pro Ser Glu Glu Leu Leu Glu Gly Gln Pro Val Leu Leu
 565 570 575

Ser Cys Gln Ala Asp Ser Tyr Lys Tyr Glu His Leu Arg Trp Tyr Arg
 580 585 590

Leu Asn Leu Ser Thr Leu His Asp Ala His Gly Asn Pro Leu Leu Leu
 595 600 605

Asp Cys Lys Asn Val His Leu Phe Ala Thr Pro Leu Ala Ala Ser Leu
 610 615 620

Glu Glu Val Ala Pro Gly Ala Arg His Ala Thr Leu Ser Leu Ser Ile
 625 630 635 640

Pro Arg Val Ala Pro Glu His Glu Gly His Tyr Val Cys Glu Val Gln
 645 650 655

Asp Arg Arg Ser His Asp Lys His Cys His Lys Lys Tyr Leu Ser Val
 660 665 670

Gln Ala Leu Glu Ala Pro Arg Leu Thr Gln Asn Leu Thr Asp Leu Leu
675 680 685

Val Asn Val Ser Asp Ser Leu Glu Met Gln Cys Leu Val Ala Gly Ala
690 695 700

His Ala Pro Ser Ile Val Trp Tyr Lys Asp Glu Arg Leu Leu Glu Glu
705 710 715 720

Lys Ser Gly Val Asp Leu Ala Asp Ser Asn Gln Lys Leu Ser Ile Gln
725 730 735

Arg Val Arg Glu Glu Asp Ala Gly Arg Tyr Leu Cys Ser Val Cys Asn
740 745 750

Ala Lys Gly Cys Val Asn Ser Ser Ala Ser Val Ala Val Glu Gly Ser
755 760 765

Glu Asp Lys Gly Ser Met Glu Ile Val Ile Leu Val Gly Thr Gly Val
770 775 780

Ile Ala Val Phe Phe Trp Val Leu Leu Leu Leu Ile Phe Cys Asn Met
785 790 795 800

Arg Arg Pro Ala His Ala Asp Ile Lys Thr Gly Tyr Leu Ser Ile Ile
805 810 815

Met Asp Pro Gly Glu Val Pro Leu Glu Glu Gln Cys Glu Tyr Leu Ser
820 825 830

Tyr Asp Ala Ser Gln Trp Glu Phe Pro Arg Glu Arg Leu His Leu Gly
835 840 845

Arg Val Leu Gly Tyr Gly Ala Phe Gly Lys Val Val Glu Ala Ser Ala
850 855 860

Phe Gly Ile His Lys Gly Ser Ser Cys Asp Thr Val Ala Val Lys Met
865 870 875 880

Leu Lys Glu Gly Ala Thr Ala Ser Glu His Arg Ala Leu Met Ser Glu
885 890 895

Leu Lys Ile Leu Ile His Ile Gly Asn His Leu Asn Val Val Asn Leu
900 905 910

Leu Gly Ala Cys Thr Lys Pro Gln Gly Pro Leu Met Val Ile Val Glu
915 920 925

Phe Cys Lys Tyr Gly Asn Leu Ser Asn Phe Leu Arg Ala Lys Arg Asp
 930 935 940

Ala Phe Ser Pro Cys Ala Glu Lys Ser Pro Glu Gln Arg Gly Arg Phe
 945 950 955 960

Arg Ala Met Val Glu Leu Ala Arg Leu Asp Arg Arg Arg Pro Gly Ser
 965 970 975

Ser Asp Arg Val Leu Phe Ala Arg Phe Ser Lys Thr Glu Gly Gly Ala
 980 985 990

Arg Arg Ala Ser Pro Asp Gln Glu Ala Glu Asp Leu Trp Leu Ser Pro
 995 1000 1005

Leu Thr Met Glu Asp Leu Val Cys Tyr Ser Phe Gln Val Ala Arg
 1010 1015 1020

Gly Met Glu Phe Leu Ala Ser Arg Lys Cys Ile His Arg Asp Leu
 1025 1030 1035

Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu Ser Glu Ser Asp Val Val Lys Ile
 1040 1045 1050

Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Tyr Lys Asp Pro Asp Tyr
 1055 1060 1065

Val Arg Lys Gly Ser Ala Arg Leu Pro Leu Lys Trp Met Ala Pro
 1070 1075 1080

Glu Ser Ile Phe Asp Lys Val Tyr Thr Thr Gln Ser Asp Val Trp
 1085 1090 1095

Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe Ser Leu Gly Ala Ser
 1100 1105 1110

Pro Tyr Pro Gly Val Gln Ile Asn Glu Glu Phe Cys Gln Arg Leu
 1115 1120 1125

Arg Asp Gly Thr Arg Met Arg Ala Pro Glu Leu Ala Thr Pro Ala
 1130 1135 1140

Ile Arg Arg Ile Met Leu Asn Cys Trp Ser Gly Asp Pro Lys Ala
 1145 1150 1155

Arg Pro Ala Phe Ser Glu Leu Val Glu Ile Leu Gly Asp Leu Leu

ES 2 568 801 T3

1160						1165						1170			
Gln	Gly	Arg	Gly	Leu	Gln	Glu	Glu	Glu	Glu	Val	Cys	Met	Ala	Pro	
1175						1180					1185				
Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Ser	Glu	Glu	Gly	Ser	Phe	Ser	Gln	Val	Ser	
1190						1195					1200				
Thr	Met	Ala	Leu	His	Ile	Ala	Gln	Ala	Asp	Ala	Glu	Asp	Ser	Pro	
1205						1210					1215				
Pro	Ser	Leu	Gln	Arg	His	Ser	Leu	Ala	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Asn	Trp	
1220						1225					1230				
Val	Ser	Phe	Pro	Gly	Cys	Leu	Ala	Arg	Gly	Ala	Glu	Thr	Arg	Gly	
1235						1240					1245				
Ser	Ser	Arg	Met	Lys	Thr	Phe	Glu	Glu	Phe	Pro	Met	Thr	Pro	Thr	
1250						1255					1260				
Thr	Tyr	Lys	Gly	Ser	Val	Asp	Asn	Gln	Thr	Asp	Ser	Gly	Met	Val	
1265						1270					1275				
Leu	Ala	Ser	Glu	Glu	Phe	Glu	Gln	Ile	Glu	Ser	Arg	His	Arg	Gln	
1280						1285					1290				
Glu	Ser	Gly	Phe	Arg											
1295															

<210> 19
 <211> 1363
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

5

<400> 19

ES 2 568 801 T3

Met Gln Pro Gly Ala Ala Leu Asn Leu Arg Leu Trp Leu Cys Leu Gly
1 5 10 15

Leu Leu Gln Gly Leu Ala Asn Gly Tyr Ser Met Thr Pro Pro Thr Leu
20 25 30

Asn Ile Thr Glu Asp Ser Tyr Val Ile Asp Thr Gly Asp Ser Leu Ser
35 40 45

Ile Ser Cys Arg Gly Gln His Pro Leu Glu Trp Thr Trp Pro Gly Ala
50 55 60

Gln Glu Val Leu Thr Thr Gly Gly Lys Asp Ser Glu Asp Thr Arg Val

ES 2 568 801 T3

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

Ser Cys Arg Ala Asp Asn Tyr Thr Tyr Glu His Leu Arg Trp Tyr Arg
580 585 590

Leu Asn Leu Ser Thr Leu His Asp Ala Gln Gly Asn Pro Leu Leu Leu
595 600 605

Asp Cys Lys Asn Val His Leu Phe Ala Thr Pro Leu Glu Ala Asn Leu
610 615 620

Glu Glu Ala Glu Pro Gly Ala Arg His Ala Thr Leu Ser Leu Asn Ile
625 630 635 640

Pro Arg Val Ala Pro Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Val Cys Glu Val Gln
645 650 655

Asp Arg Arg Ser Gln Asp Lys His Cys His Lys Lys Tyr Leu Ser Val
660 665 670

Gln Ala Leu Glu Ala Pro Arg Leu Thr Gln Asn Leu Thr Asp Leu Leu
675 680 685

Val Asn Val Ser Asp Ser Leu Glu Met Arg Cys Pro Val Ala Gly Ala
690 695 700

His Val Pro Ser Ile Val Trp Tyr Lys Asp Glu Arg Leu Leu Glu Lys
705 710 715 720

Glu Ser Gly Ile Asp Leu Ala Asp Ser Asn Gln Arg Leu Ser Ile Gln
725 730 735

Arg Val Arg Glu Glu Asp Ala Gly Arg Tyr Leu Cys Ser Val Cys Asn
740 745 750

Ala Lys Gly Cys Val Asn Ser Ser Ala Ser Val Ala Val Glu Gly Ser
755 760 765

Glu Asp Lys Gly Ser Met Glu Ile Val Ile Leu Ile Gly Thr Gly Val
770 775 780

Ile Ala Val Phe Phe Trp Val Leu Leu Leu Leu Ile Phe Cys Asn Met
785 790 795 800

Lys Arg Pro Ala His Ala Asp Ile Lys Thr Gly Tyr Leu Ser Ile Ile
805 810 815

Met Asp Pro Gly Glu Val Pro Leu Glu Glu Gln Cys Glu Tyr Leu Ser
820 825 830

Tyr Asp Ala Ser Gln Trp Glu Phe Pro Arg Glu Arg Leu His Leu Gly
835 840 845

Arg Val Leu Gly His Gly Ala Phe Gly Lys Val Val Glu Ala Ser Ala
850 855 860

Phe Gly Ile Asn Lys Gly Ser Ser Cys Asp Thr Val Ala Val Lys Met
865 870 875 880

Leu Lys Glu Gly Ala Thr Ala Ser Glu His Arg Ala Leu Met Ser Glu
885 890 895

Leu Lys Ile Leu Ile His Ile Gly Asn His Leu Asn Val Val Asn Leu
900 905 910

Leu Gly Ala Cys Thr Lys Pro Asn Gly Pro Leu Met Val Ile Val Glu
915 920 925

Phe Cys Lys Tyr Gly Asn Leu Ser Asn Phe Leu Arg Val Lys Arg Asp
930 935 940

Thr Phe Asn Pro Tyr Ala Glu Lys Ser Pro Glu Gln Arg Arg Arg Phe
945 950 955 960

Arg Ala Met Val Glu Gly Ala Lys Ala Asp Arg Arg Arg Pro Gly Ser
965 970 975

Ser Asp Arg Ala Leu Phe Thr Arg Phe Leu Met Gly Lys Gly Ser Ala
980 985 990

Arg Arg Ala Pro Leu Val Gln Glu Ala Glu Asp Leu Trp Leu Ser Pro
995 1000 1005

Leu Thr Met Glu Asp Leu Val Cys Tyr Ser Phe Gln Val Ala Arg
1010 1015 1020

Gly Met Glu Phe Leu Ala Ser Arg Lys Cys Ile His Arg Asp Leu
1025 1030 1035

Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu Ser Glu Ser Asp Ile Val Lys Ile
1040 1045 1050

Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Tyr Lys Asp Pro Asp Tyr
1055 1060 1065

Val Arg Lys Gly Ser Ala Arg Leu Pro Leu Lys Trp Met Ala Pro

1070						1075						1080			
Glu	Ser	Ile	Phe	Asp	Lys	Val	Tyr	Thr	Thr	Gln	Ser	Asp	Val	Trp	
1085						1090					1095				
Ser	Phe	Gly	Val	Leu	Leu	Trp	Glu	Ile	Phe	Ser	Leu	Gly	Ala	Ser	
1100						1105					1110				
Pro	Tyr	Pro	Gly	Val	Gln	Ile	Asn	Glu	Glu	Phe	Cys	Gln	Arg	Leu	
1115						1120					1125				
Lys	Asp	Gly	Thr	Arg	Met	Arg	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Thr	Pro	Ala	
1130						1135					1140				
Ile	Arg	His	Ile	Met	Gln	Ser	Cys	Trp	Ser	Gly	Asp	Pro	Lys	Ala	
1145						1150					1155				
Arg	Pro	Ala	Phe	Ser	Asp	Leu	Val	Glu	Ile	Leu	Gly	Asp	Leu	Leu	
1160						1165					1170				
Gln	Gly	Gly	Gly	Trp	Gln	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Arg	Met	Ala	Leu	
1175						1180					1185				
His	Ser	Ser	Gln	Ser	Ser	Glu	Glu	Asp	Gly	Phe	Met	Gln	Ala	Ser	
1190						1195					1200				
Thr	Thr	Ala	Leu	His	Ile	Thr	Glu	Ala	Asp	Ala	Asp	Asp	Ser	Pro	
1205						1210					1215				
Pro	Ser	Met	His	Cys	His	Ser	Leu	Ala	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Asn	Cys	
1220						1225					1230				
Val	Ser	Phe	Pro	Gly	Arg	Leu	Ala	Arg	Gly	Thr	Lys	Thr	Pro	Gly	
1235						1240					1245				
Ser	Ser	Arg	Met	Lys	Thr	Phe	Glu	Glu	Leu	Pro	Met	Thr	Pro	Thr	
1250						1255					1260				
Thr	Tyr	Lys	Ala	Ser	Met	Asp	Asn	Gln	Thr	Asp	Ser	Gly	Met	Val	
1265						1270					1275				
Leu	Ala	Ser	Glu	Glu	Phe	Glu	Glu	Leu	Glu	Ser	Arg	His	Arg	Pro	
1280						1285					1290				
Glu	Gly	Ser	Phe	Ser	Cys	Lys	Gly	Pro	Gly	Gln	His	Met	Asp	Ile	
1295						1300					1305				

ES 2 568 801 T3

Pro Arg Gly His Pro Asp Pro Gln Gly Arg Arg Arg Arg Pro Thr
 1310 1315 1320

Gln Gly Ala Gln Gly Gly Lys Val Phe Tyr Asn Asn Glu Tyr Gly
 1325 1330 1335

Glu Val Ser Gln Pro Cys Thr Glu Gly Asp Cys Cys Pro Ser Ala
 1340 1345 1350

Gly Ser Thr Phe Phe Ala Asp Ser Ser Tyr
 1355 1360

<210> 20
 <211> 1363
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

5

<400> 20

Met Gln Pro Gly Ala Ala Leu Asn Leu Arg Leu Trp Leu Cys Leu Gly
 1 5 10 15

Leu Leu Gln Gly Leu Ala Asn Gly Tyr Ser Met Thr Pro Pro Thr Leu
 20 25 30

Asn Ile Thr Glu Asp Ser Tyr Val Ile Asp Thr Gly Asp Ser Leu Ser
 35 40 45

Ile Ser Cys Arg Gly Gln His Pro Leu Glu Trp Thr Trp Pro Gly Ala
 50 55 60

Gln Glu Val Leu Thr Thr Gly Gly Lys Asp Ser Glu Asp Thr Arg Val
 65 70 75 80

Val His Asp Cys Glu Gly Thr Glu Ala Arg Pro Tyr Cys Lys Val Leu
 85 90 95

Leu Leu Ala Gln Thr His Ala Asn Asn Thr Gly Ser Tyr His Cys Tyr
 100 105 110

Tyr Lys Tyr Ile Lys Ala Arg Ile Glu Gly Thr Thr Ala Ala Ser Thr
 115 120 125

Tyr Val Phe Val Arg Asp Phe Lys His Pro Phe Ile Asn Lys Pro Asp
 130 135 140

Thr Leu Leu Val Asn Arg Lys Asp Ser Met Trp Val Pro Cys Leu Val
 145 150 155 160

10

Ser Ile Pro Gly Leu Asn Ile Thr Leu Arg Ser Gln Ser Ser Ala Leu
 165 170 175

His Pro Asp Gly Gln Glu Val Leu Trp Asp Asp Arg Arg Gly Met Arg
 180 185 190

Val Pro Thr Gln Leu Leu Arg Asp Ala Leu Tyr Leu Gln Cys Glu Thr
 195 200 205

Thr Trp Gly Asp Gln Asn Phe Leu Ser Asn Pro Phe Val Val His Ile
 210 215 220

Thr Gly Asn Glu Leu Tyr Asp Ile Gln Leu Tyr Pro Lys Lys Ser Met
 225 230 235 240

Glu Leu Leu Val Gly Glu Lys Leu Val Leu Asn Cys Thr Val Trp Ala
 245 250 255

Glu Phe Asp Ser Gly Val Thr Phe Asp Trp Asp Tyr Pro Gly Lys Gln
 260 265 270

Ala Glu Arg Ala Lys Trp Val Pro Glu Arg Arg Ser Gln Gln Thr His
 275 280 285

Thr Glu Leu Ser Ser Ile Leu Thr Ile His Asn Val Ser Gln Asn Asp
 290 295 300

Leu Gly Pro Tyr Val Cys Glu Ala Asn Asn Gly Ile Gln Arg Phe Arg
 305 310 315 320

Glu Ser Thr Glu Val Ile Val His Glu Lys Pro Phe Ile Ser Val Glu
 325 330 335

Trp Leu Lys Gly Pro Val Leu Glu Ala Thr Ala Gly Asp Glu Leu Val
 340 345 350

Lys Leu Pro Val Lys Leu Ala Ala Tyr Pro Pro Pro Glu Phe Gln Trp
 355 360 365

Tyr Lys Asp Arg Lys Ala Val Thr Gly Arg His Asn Pro His Ala Leu
 370 375 380

Val Leu Lys Glu Val Thr Glu Ala Ser Ala Gly Val Tyr Thr Leu Ala
 385 390 395 400

Leu Trp Asn Ser Ala Ala Gly Leu Arg Gln Asn Ile Ser Leu Glu Leu
 405 410 415

ES 2 568 801 T3

Val Val Asn Val Pro Pro His Ile His Glu Lys Glu Ala Ser Ser Pro
420 425 430

Ser Ile Tyr Ser Arg His Ser Arg Gln Thr Leu Thr Cys Thr Ala Tyr
435 440 445

Gly Val Pro Gln Pro Leu Ser Val Gln Trp His Trp Arg Pro Trp Thr
450 455 460

Pro Cys Lys Thr Phe Ala Gln Arg Ser Leu Arg Arg Arg Gln Gln Arg
465 470 475 480

Asp Gly Met Pro Gln Cys Arg Asp Trp Lys Glu Val Thr Thr Gln Asp
485 490 495

Ala Val Asn Pro Ile Glu Ser Leu Asp Ser Trp Thr Glu Phe Val Glu
500 505 510

Gly Lys Asn Lys Thr Val Ser Lys Leu Val Ile Gln Asp Ala Asn Val
515 520 525

Ser Ala Met Tyr Lys Cys Val Val Val Asn Lys Val Gly Gln Asp Glu
530 535 540

Arg Leu Ile Tyr Phe Tyr Val Thr Thr Ile Pro Asp Gly Phe Ser Ile
545 550 555 560

Glu Ser Glu Pro Ser Glu Asp Pro Leu Glu Gly Gln Ser Val Arg Leu
565 570 575

Ser Cys Arg Ala Asp Asn Tyr Thr Tyr Glu His Leu Arg Trp Tyr Arg
580 585 590

Leu Asn Leu Ser Thr Leu His Asp Ala Gln Gly Asn Pro Leu Leu Leu
595 600 605

Asp Cys Lys Asn Val His Leu Phe Ala Thr Pro Leu Glu Ala Asn Leu
610 615 620

Glu Glu Ala Glu Pro Gly Ala Arg His Ala Thr Leu Ser Leu Asn Ile
625 630 635 640

Pro Arg Val Ala Pro Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Val Cys Glu Val Gln
645 650 655

Asp Arg Arg Ser Gln Asp Lys His Cys His Lys Lys Tyr Leu Ser Val
660 665 670

Gln Ala Leu Glu Ala Pro Arg Leu Thr Gln Asn Leu Thr Asp Leu Leu
675 680 685

Val Asn Val Ser Asp Ser Leu Glu Met Arg Cys Pro Val Ala Gly Ala
690 695 700

His Val Pro Ser Ile Val Trp Tyr Lys Asp Glu Arg Leu Leu Glu Lys
705 710 715 720

Glu Ser Gly Ile Asp Leu Ala Asp Ser Asn Gln Arg Leu Ser Ile Gln
725 730 735

Arg Val Arg Glu Glu Asp Ala Gly Arg Tyr Leu Cys Ser Val Cys Asn
740 745 750

Ala Lys Gly Cys Val Asn Ser Ser Ala Ser Val Ala Val Glu Gly Ser
755 760 765

Glu Asp Lys Gly Ser Met Glu Ile Val Ile Leu Ile Gly Thr Gly Val
770 775 780

Ile Ala Val Phe Phe Trp Val Leu Leu Leu Leu Ile Phe Cys Asn Met
785 790 795 800

Lys Arg Pro Ala His Ala Asp Ile Lys Thr Gly Tyr Leu Ser Ile Ile
805 810 815

Met Asp Pro Gly Glu Val Pro Leu Glu Glu Gln Cys Glu Tyr Leu Ser
820 825 830

Tyr Asp Ala Ser Gln Trp Glu Phe Pro Arg Glu Arg Leu His Leu Gly
835 840 845

Arg Val Leu Gly His Gly Ala Phe Gly Lys Val Val Glu Ala Ser Ala
850 855 860

Phe Gly Ile Asn Lys Gly Ser Ser Cys Asp Thr Val Ala Val Lys Met
865 870 875 880

Leu Lys Glu Gly Ala Thr Ala Ser Glu His Arg Ala Leu Met Ser Glu
885 890 895

Leu Lys Ile Leu Ile His Ile Gly Asn His Leu Asn Val Val Asn Leu
900 905 910

Leu Gly Ala Cys Thr Lys Pro Asn Gly Pro Leu Met Val Ile Val Glu

Arg Pro Ala Phe Ser Asp Leu Val Glu Ile Leu Gly Asp Leu Leu
 1160 1165 1170

Gln Gly Gly Gly Trp Gln Glu Glu Glu Glu Glu Arg Met Ala Leu
 1175 1180 1185

His Ser Ser Gln Ser Ser Glu Glu Asp Gly Phe Met Gln Ala Ser
 1190 1195 1200

Thr Thr Ala Leu His Ile Thr Glu Ala Asp Ala Asp Asp Ser Pro
 1205 1210 1215

Pro Ser Met His Cys His Ser Leu Ala Ala Arg Tyr Tyr Asn Cys
 1220 1225 1230

Val Ser Phe Pro Gly Arg Leu Ala Arg Gly Thr Lys Thr Pro Gly
 1235 1240 1245

Ser Ser Arg Met Lys Thr Phe Glu Glu Leu Pro Met Thr Pro Thr
 1250 1255 1260

Thr Tyr Lys Ala Ser Met Asp Asn Gln Thr Asp Ser Gly Met Val
 1265 1270 1275

Leu Ala Ser Glu Glu Phe Glu Glu Leu Glu Ser Arg His Arg Pro
 1280 1285 1290

Glu Gly Ser Phe Ser Cys Lys Gly Pro Gly Gln His Met Asp Ile
 1295 1300 1305

Pro Arg Gly His Pro Asp Pro Gln Gly Arg Arg Arg Arg Pro Thr
 1310 1315 1320

Gln Gly Ala Gln Gly Gly Lys Val Phe Tyr Asn Asn Glu Tyr Gly
 1325 1330 1335

Glu Val Ser Gln Pro Cys Thr Glu Gly Asp Cys Cys Pro Ser Ala
 1340 1345 1350

Gly Ser Thr Phe Phe Ala Asp Ser Ser Tyr
 1355 1360

<210> 21
 <211> 1363
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

5

<400> 21

ES 2 568 801 T3

Met Gln Pro Gly Ala Ala Leu Asn Leu Arg Leu Trp Leu Cys Leu Gly
1 5 10 15

Leu Leu Gln Gly Leu Ala Asn Gly Tyr Ser Met Thr Pro Pro Thr Leu
20 25 30

Asn Ile Thr Glu Asp Ser Tyr Val Ile Asp Thr Gly Asp Ser Leu Ser
35 40 45

Ile Ser Cys Arg Gly Gln His Pro Leu Glu Trp Thr Trp Pro Gly Ala
50 55 60

Gln Glu Val Leu Thr Thr Gly Gly Lys Asp Ser Glu Asp Thr Arg Val
65 70 75 80

Val His Asp Cys Glu Gly Thr Glu Ala Arg Pro Tyr Cys Lys Val Leu
85 90 95

Leu Leu Ala Gln Thr His Ala Asn Asn Thr Gly Ser Tyr His Cys Tyr
100 105 110

Tyr Lys Tyr Ile Lys Ala Arg Ile Glu Gly Thr Thr Ala Ala Ser Thr
115 120 125

Tyr Val Phe Val Arg Asp Phe Lys His Pro Phe Ile Asn Lys Pro Asp
130 135 140

Thr Leu Leu Val Asn Arg Lys Asp Ser Met Trp Val Pro Cys Leu Val
145 150 155 160

Ser Ile Pro Gly Leu Asn Ile Thr Leu Arg Ser Gln Ser Ser Val Leu
165 170 175

His Pro Asp Gly Gln Glu Val Leu Trp Asp Asp Arg Arg Gly Met Arg
180 185 190

Val Pro Thr Gln Leu Leu Arg Asp Ala Leu Tyr Leu Gln Cys Glu Thr
195 200 205

Thr Trp Gly Asp Gln Asn Phe Leu Ser Asn Leu Phe Val Val His Ile
210 215 220

Thr Gly Asn Glu Leu Tyr Asp Ile Gln Leu Tyr Pro Lys Lys Ser Met
225 230 235 240

Glu Leu Leu Val Gly Glu Lys Leu Val Leu Asn Cys Thr Val Trp Ala
245 250 255

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

Gly Lys Asn Lys Thr Val Ser Lys Leu Val Ile Gln Asp Ala Asn Val
 515 520 525

Ser Ala Met Tyr Lys Cys Val Val Val Asn Lys Val Gly Gln Asp Glu
 530 535 540

Arg Leu Ile Tyr Phe Tyr Val Thr Thr Ile Pro Asp Gly Phe Ser Ile
 545 550 555 560

Glu Ser Glu Pro Ser Glu Asp Pro Leu Glu Gly Gln Ser Val Arg Leu
 565 570 575

Ser Cys Arg Ala Asp Asn Tyr Thr Tyr Glu His Leu Arg Trp Tyr Arg
 580 585 590

Leu Asn Leu Ser Thr Leu His Asp Ala Gln Gly Asn Pro Leu Leu Leu
 595 600 605

Asp Cys Lys Asn Val His Leu Phe Ala Thr Pro Leu Glu Ala Asn Leu
 610 615 620

Glu Glu Ala Glu Pro Gly Ala Arg His Ala Thr Leu Ser Leu Asn Ile
 625 630 635 640

Pro Arg Val Ala Pro Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Val Cys Glu Val Gln
 645 650 655

Asp Arg Arg Ser Gln Asp Lys His Cys His Lys Lys Tyr Leu Ser Val
 660 665 670

Gln Ala Leu Glu Ala Pro Arg Leu Thr Gln Asn Leu Thr Asp Leu Leu
 675 680 685

Val Asn Val Ser Asp Ser Leu Glu Met Arg Cys Pro Val Ala Gly Ala
 690 695 700

His Val Pro Ser Ile Val Trp Tyr Lys Asp Glu Arg Leu Leu Glu Lys
 705 710 715 720

Glu Ser Gly Ile Asp Leu Ala Asp Ser Asn Gln Arg Leu Ser Ile Gln
 725 730 735

Arg Val Arg Glu Glu Asp Ala Gly Arg Tyr Leu Cys Ser Val Cys Asn
 740 745 750

Ala Lys Gly Cys Val Asn Ser Ser Ala Ser Val Ala Val Glu Gly Ser

ES 2 568 801 T3

755		760		765											
Glu 770	Asp	Lys	Gly	Ser	Met	Glu 775	Ile	Val	Ile	Leu	Ile 780	Gly	Thr	Gly	Val
Ile 785	Ala	Val	Phe	Phe	Trp 790	Val	Leu	Leu	Leu	Leu 795	Ile	Phe	Cys	Asn	Met 800
Lys	Arg	Pro	Ala	His 805	Ala	Asp	Ile	Lys	Thr 810	Gly	Tyr	Leu	Ser	Ile 815	Ile
Met	Asp	Pro	Gly 820	Glu	Val	Pro	Leu	Glu 825	Glu	Gln	Cys	Glu	Tyr 830	Leu	Ser
Tyr	Asp	Ala 835	Ser	Gln	Trp	Glu	Phe 840	Pro	Arg	Glu	Arg	Leu 845	His	Leu	Gly
Arg 850	Val	Leu	Gly	His	Gly	Ala 855	Phe	Gly	Lys	Val	Val 860	Glu	Ala	Ser	Ala
Phe 865	Gly	Ile	Asn	Lys	Gly 870	Ser	Ser	Cys	Asp	Thr 875	Val	Ala	Val	Lys	Met 880
Leu	Lys	Glu	Gly	Ala 885	Thr	Ala	Ser	Glu	His 890	Arg	Ala	Leu	Met	Ser 895	Glu
Leu	Lys	Ile 900	Leu	Ile	His	Ile	Gly	Asn 905	His	Leu	Asn	Val 910	Val	Asn	Leu
Leu	Gly 915	Ala	Cys	Thr	Lys	Pro	Asn 920	Gly	Pro	Leu	Met	Val 925	Ile	Val	Glu
Phe 930	Cys	Lys	Tyr	Gly	Asn 935	Leu	Ser	Asn	Phe	Leu	Arg 940	Val	Lys	Arg	Asp
Thr 945	Phe	Asn	Pro	Tyr	Ala 950	Glu	Lys	Ser	Pro	Glu 955	Gln	Arg	Arg	Arg	Phe 960
Arg	Ala	Met	Val	Glu 965	Gly	Ala	Lys	Ala	Asp 970	Arg	Arg	Arg	Pro	Gly 975	Ser
Ser	Asp	Arg	Ala 980	Leu	Phe	Thr	Arg	Phe 985	Leu	Met	Gly	Lys	Gly 990	Ser	Ala
Arg	Arg	Ala 995	Pro	Leu	Val	Gln	Glu 1000	Ala	Glu	Asp	Leu	Trp 1005	Leu	Ser	Pro

ES 2 568 801 T3

Leu Thr Met Glu Asp Leu Val Cys Tyr Ser Phe Gln Val Ala Arg
 1010 1015 1020
 Gly Met Glu Phe Leu Ala Ser Arg Lys Cys Ile His Arg Asp Leu
 1025 1030 1035
 Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu Ser Glu Ser Asp Ile Val Lys Ile
 1040 1045 1050
 Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Tyr Lys Asp Pro Asp Tyr
 1055 1060 1065
 Val Arg Lys Gly Ser Ala Arg Leu Pro Leu Lys Trp Met Ala Pro
 1070 1075 1080
 Glu Ser Ile Phe Asp Lys Val Tyr Thr Thr Gln Ser Asp Val Trp
 1085 1090 1095
 Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe Ser Leu Gly Ala Ser
 1100 1105 1110
 Pro Tyr Pro Gly Val Gln Ile Asn Glu Glu Phe Cys Gln Arg Leu
 1115 1120 1125
 Lys Asp Gly Thr Arg Met Arg Ala Pro Glu Leu Ala Thr Pro Ala
 1130 1135 1140
 Ile Arg His Ile Met Gln Ser Cys Trp Ser Gly Asp Pro Lys Ala
 1145 1150 1155
 Arg Pro Ala Phe Ser Asp Leu Val Glu Ile Leu Gly Asp Leu Leu
 1160 1165 1170
 Gln Gly Gly Gly Trp Gln Glu Glu Glu Glu Glu Arg Met Ala Leu
 1175 1180 1185
 His Ser Ser Gln Ser Ser Glu Glu Asp Gly Phe Met Gln Ala Ser
 1190 1195 1200
 Thr Thr Ala Leu His Ile Thr Glu Ala Asp Ala Asp Asp Ser Pro
 1205 1210 1215
 Pro Ser Met His Cys His Ser Leu Ala Ala Arg Tyr Tyr Asn Cys
 1220 1225 1230
 Val Ser Phe Pro Gly Arg Leu Ala Arg Gly Thr Lys Thr Pro Gly
 1235 1240 1245

Ser Ser Arg Met Lys Thr Phe Glu Glu Leu Pro Met Thr Pro Thr
 1250 1255 1260

Thr Tyr Lys Ala Ser Met Asp Asn Gln Thr Asp Ser Gly Met Val
 1265 1270 1275

Leu Ala Ser Glu Glu Phe Glu Glu Leu Glu Ser Arg His Arg Pro
 1280 1285 1290

Glu Gly Ser Phe Ser Cys Lys Gly Pro Gly Gln His Met Asp Ile
 1295 1300 1305

Pro Arg Gly His Pro Asp Pro Gln Gly Arg Arg Arg Arg Pro Thr
 1310 1315 1320

Gln Gly Ala Gln Gly Gly Lys Val Phe Tyr Asn Asn Glu Tyr Gly
 1325 1330 1335

Glu Val Ser Gln Pro Cys Thr Glu Gly Asp Cys Cys Pro Ser Ala
 1340 1345 1350

Gly Ser Thr Phe Phe Ala Asp Ser Ser Tyr
 1355 1360

<210> 22
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 22

5

ES 2 568 801 T3

Thr Glu Glu Thr Ile Lys Phe Ala Ala Ala His Tyr Asn Thr Glu Ile
 1 5 10 15

Leu Lys Ser Ile Asp Asn Glu Trp Arg Lys Thr Gln Cys Met Pro Arg
 20 25 30

Glu Val Cys Ile Asp Val Gly Lys Glu Phe Gly Val Ala Thr Asn Thr
 35 40 45

Phe Phe Lys Pro Pro Cys Val Ser Val Tyr Arg Cys Gly Gly Cys Cys
 50 55 60

Asn Ser Glu Gly Leu Gln Cys Met Asn Thr Ser Thr Ser Tyr Leu Ser
 65 70 75 80

Lys Thr Leu Phe Glu Ile Thr Val Pro Leu Ser Gln Gly Pro Lys Pro
 85 90 95

Val Thr Ile Ser Phe Ala Asn His Thr Ser Cys Arg Cys Met Ser Lys
 100 105 110

Leu

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente al VEGFR-3 humano que comprende una LCDR1 de SEQ ID NO 1, una LCDR2 de SEQ ID NO 2, una LCDR3 de SEQ ID NO 3, una HCDR1 de SEQ ID NO 6, una HCDR2 de SEQ ID NO 7 y una HCDR3 de SEQ ID NO 8.
- 5 2. El anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de la reivindicación 1, que comprende una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 5 y una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 10.
3. El anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de la reivindicación 1 o 2, en el que el anticuerpo comprende una cadena ligera de SEQ ID NO: 15 y una cadena pesada de SEQ ID NO: 16.
- 10 4. El anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de la reivindicación 3, en el que el anticuerpo comprende dos cadenas ligeras de SEQ ID NO: 15 y dos cadenas pesadas de SEQ ID NO: 16.
5. Un anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que:
- a) la unión de dicho anticuerpo con el VEGFR-3 humano se reduce en al menos 90 % mutando individualmente Pro-219 del VEGFR-3 humano por Leu; y
- 15 b) la unión de dicho anticuerpo con el VEGFR-3 humano se reduce en al menos 50 % mediante la mutación individualmente Val-175 del VEGFR-3 humano por Ala.
6. El anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la unión de dicho anticuerpo con el VEGFR-3 humano se reduce en al menos 50 % mediante la mutación individualmente Leu-221 del VEGFR-3 humano por Val.
- 20 7. El anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que también se une a un VEGFR-3 mutante de ratón de SEQ ID NO: 20 y a un VEGFR-3 mutante de ratón de SEQ ID NO: 21, en el que la unión con el VEGFR-3 mutante de ratón de SEQ ID NO: 20 aumenta en más de 50 veces cuando se compara con la unión con el VEGFR-3 de tipo silvestre de ratón (SEQ ID NO: 19) y la unión con el VEGFR-3 mutante de ratón de SEQ ID NO: 21 aumenta en más de 10 veces cuando se compara con la unión con el VEGFR-3 de tipo silvestre de ratón.
- 25 8. El anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en el que el anticuerpo tiene un valor K_d de 1×10^{-9} M a $5,6 \times 10^{-11}$ M para el VEGFR-3 humano, medido por resonancia de plasmón superficial en un biosensor BIACORE® 2000 a 20 °C.
- 30 9. El anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el anticuerpo inhibe la unión del VEGF-C_{ΔNΔC} humano (SEQ ID NO: 22) con el VEGFR-3 humano con una CI_{50} de 2 nM a 1,3 nM.
10. El anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el anticuerpo inhibe la respuesta mitogénica estimulada por el VEGF-C_{ΔNΔC} con una CI_{50} de 10 nM a 5 nM.
- 35 11. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o la parte de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 junto con un vehículo, un diluyente o un excipiente farmacéuticamente aceptable.
12. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 11, en el que dicha composición contiene opcionalmente al menos un principio terapéutico distinto.
13. El anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para su uso como un medicamento.
- 40 14. El anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para su uso en el tratamiento de cáncer de ovario, eritroleucemia humana, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, carcinoma de células renales, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de colon y metástasis de ganglios linfáticos.
- 45 15. El anticuerpo, o parte de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en combinación con un agente anticanceroso adicional seleccionado de cisplatino, 5-fluorouracilo, leucovorina, oxaliplatino y docetaxel para su uso simultáneo, individual o secuencial en terapia.