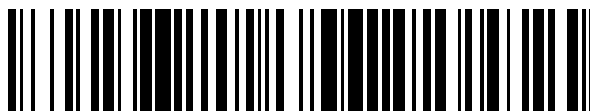


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 825**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.11.2009 E 15175051 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.02.2018 EP 2963058**

54 Título: **Anticuerpos contra c-Met**

30 Prioridad:

21.11.2008 US 116825 P

24.06.2009 US 219903 P

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

17.04.2018

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)

Lilly Corporate Center

Indianapolis, IN 46285, US

72 Inventor/es:

DAVIES, JULIAN;

LIU, LING;

LU, JIRONG;

VAILLANCOURT, PETER;

WORTINGER, MARK y

ZENG, WEI

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 663 825 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

Anticuerpos contra c-Met

La presente invención se refiere a anticuerpos que se unen a c-Met y a su uso en el tratamiento de afecciones y trastornos en los que la patogenia está mediada por este receptor.

5 c-Met, un miembro de la superfamilia de las tirosina quinasas, es el receptor para el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF). La unión del HGF a c-Met conduce a la dimerización o multimerización del receptor, la fosforilación de múltiples restos de tirosina en la región intracelular, la activación catalítica y la señalización aguas abajo. c-Met también se activa a través de mecanismos independientes de ligando, incluyendo la sobreexpresión, amplificación y mutación del receptor. La activación de c-Met aumenta la proliferación celular, la migración, la morfogénesis, la supervivencia (incluyendo la protección de la apoptosis) y la síntesis de proteasas, las características que están asociadas con el fenotipo de células invasoras y desenlaces clínicos malos, y la resistencia a fármacos en pacientes con cáncer. La ruta de señalización de c-Met es una de las rutas mal reguladas con más frecuencia en los cánceres humanos y se produce prácticamente en todos los tipos de tumores sólidos.

10 La publicación internacional PCT WO 09/007427 desvela anticuerpos murinos contra c-Met humanizados, con injertos de CDR. El anticuerpo murino 224G11 desvelado en dicha publicación no se unía al dominio Sema de c-Met. Otras propiedades funcionales del derivado de IgG1 humanizado de este anticuerpo murino, denominado Acm h224G11, se comunican en los resúmenes n.º 835 (datos *in vitro*) y 2792 (datos *in vivo*) y sus pósteres adjuntos presentados en la reunión de la American Association for Cancer Research (Denver, CO) en Abril de 2009. Estos resúmenes y pósteres desvelan que el Acm h224G11 bivalente está desprovisto de propiedades agonistas, se comporta como antagonista total de c-Met y disminuye potencialmente la dimerización de c-Met. Se comunica que 224G11 murino regula por disminución c-Met y bloquea la fosforilación de c-Met *in vivo*. En el caso de otros receptores, la dimerización es un requisito previo para la internalización y degradación del receptor. Estos resúmenes y pósteres no desvelan datos relativos a la internalización de c-Met. Además, no se identifica el epítipo al que el anticuerpo humanizado se une en de c-Met.

15 La publicación internacional PCT WO 05/016382 también desvela anticuerpos contra c-Met, pero no identifica el epítipo (o epítipos) al que se unen los anticuerpos. Se proporciona un ejemplo de mapeo de epítipos, sin embargo, los resultados comunicados indican simplemente que seis anticuerpos contra c-Met se unen a un epítipo común, mientras un séptimo anticuerpo contra c-Met se une a un epítipo distinto. Los epítipos particulares a los que se unen estos anticuerpos contra c-Met no se proporcionan.

20 Existe una necesidad de anticuerpos antagonistas contra c-Met humano, cuya unión a la cadena α de c-Met humano facilite la internalización del receptor de la superficie celular, en presencia y/o ausencia de HGF. Existe también una necesidad de anticuerpos antagonistas contra c-Met humano, cuya unión a la cadena α de c-Met humano facilite la internalización del receptor de la superficie celular, en células que comprenden variantes de c-Met que contienen mutaciones de ganancia de función. También hay una necesidad de anticuerpos antagonistas contra c-Met humanos que induzcan la degradación de c-Met y la reducción de c-Met fosforilado. Tales actividades antagonistas podrían disminuir el número de sitios de unión disponibles para HGF en las superficies de células tumorales e interrumpir la activación de la ruta provocada por la sobreexpresión, amplificación o mutación de c-Met. Al mismo tiempo, dichos anticuerpos antagonistas deben inhibir la unión de HGF a c-Met y la activación de c-Met inducida por HGF, e inducir poca o ninguna actividad agonista ellos mismos.

25 Los compuestos de anticuerpo de la presente invención satisfacen estas necesidades. Se unen a epítipos en la cadena el α del dominio Sema de c-Met humano, inhibiendo la unión de HGF a c-Met y la activación del receptor, mientras que inducen poca o ninguna actividad agonista. Los anticuerpos de la presente invención también inducen la internalización del receptor en presencia o ausencia de HGF y también en células que comprenden variantes de c-Met que contienen mutaciones de ganancia de función. Inducen la degradación de c-Met e inducen la reducción de c-Met humano fosforilado, e inhiben la proliferación dependiente de HGF e independiente de HGF de células tumorales que expresan este receptor. En vista de estas propiedades, estos compuestos de anticuerpo deben ser terapéuticamente útiles en el tratamiento de cánceres mediados por c-Met a través de una diversidad de mecanismos distintos.

30 Además, los presentes compuestos de anticuerpo poseen varias otras propiedades convenientes. Presentan una afinidad (K_D) alta por c-Met, bloquean la fosforilación de c-Met mediada por HGF y la señalización aguas abajo, la proliferación celular y la migración celular; e inducen únicamente fosforilación débil de c-Met, mientras inducen poca o ninguna de las actividades agonistas biológicas similares a HGF, tal como la inducción de la proliferación de células tumorales, motilidad, invasión, tubulogénesis, angiogénesis o efectos antiapoptóticos. Inhiben la activación de la ruta de c-Met tanto dependiente de ligando (HGF) como independiente de ligando. Adicionalmente, los compuestos de anticuerpo de la presente invención se unen preferentemente al dominio extracelular (DEC) de c-Met humano en comparación con los DEC de los receptores estrechamente relacionados Ron y Plexina A2, y no provocan "desprendimiento" del DEC de c-Met.

El objeto de la invención se define mediante las reivindicaciones.

- Según el primer aspecto de la presente invención, se proporciona un anticuerpo monoclonal contra c-Met, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en el que LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53), LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54), LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos QVYSGYPLT (SEQ ID NO: 56), HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMMH (SEQ ID NO: 65), HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRRGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 68) y HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos ANWLDY (SEQ ID NO: 69) para su uso en el tratamiento de cánceres mediados por c-Met.
- 5
- 10 Preferentemente, el gen de c-Met está sobreexpresado, amplificado y/o mutado. Más preferentemente, el gen de c-Met está amplificado.
- El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la presente invención, es preferentemente para su uso en el tratamiento de cánceres de mama, hígado, cabeza y cuello, melanoma, cerebro, colorrectales, de colon, gástricos, de riñón, esofágicos, de próstata, de pulmón, de pulmón no microcíticos (CPNM) y de estómago.
- 15 El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso de acuerdo con la presente invención se une preferentemente a un epítipo dentro de la cadena α de c-Met humano e induce la internalización de c-Met humano de la superficie celular. Más preferentemente, este induce la internalización independiente del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) del c-Met humano de la superficie celular.
- 20 Preferentemente, el anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con la presente invención, se une dentro de una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
- a) ¹²¹VVDYYDDQL₁₃₀ (SEQ ID NO: 77),
 - b) ¹³¹ISCGSVNRGTCQRHVFPNHHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO: 78),
 - c) ¹⁷⁹ALGAKVLSSVKDRFINF₁₉₅ (SEQ ID NO: 79), y
 - d) ²¹⁶VRRLKETKDGFM₂₂₇ (SEQ ID NO: 80).
- 25 Más preferentemente, este se une dentro de una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
- a. ¹²³DTYYDD₁₂₈ (SEQ ID NO: 81),
 - b. ¹⁴⁴HVFPNHHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO: 82),
 - c. ¹⁹²FINF₁₉₅ (SEQ ID NO: 83), y
 - d. ²²⁰KETKDGFM₂₂₇ (SEQ ID NO: 84).
- 30 Incluso más preferentemente, se une una secuencia de aminoácidos dentro del epítipo conformacional caracterizado por ¹²³DTYYDD₁₂₈ (SEQ ID NO: 81), ¹⁴⁴HVFPNHHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO: 82), ¹⁹²FINF₁₉₅ (SEQ ID NO: 83) y ²²⁰KETKDGFM₂₂₇ (SEQ ID NO: 84) inclusive.
- 35 Preferentemente, el anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con la presente invención, comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) y una región variable de la cadena pesada (HCVR), en el que la LCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y la HCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17.
- El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con la presente invención comprende preferentemente una cadena ligera que tiene una región constante kappa y una cadena pesada que tiene una región constante de cadena pesada de IgG4.
- 40 Preferentemente, el anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con la presente invención, comprende una cadena ligera codificada por la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 35, y una cadena pesada codificada por la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 47.
- Más preferentemente, este comprende unas dos cadenas ligeras codificadas por la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 35 y dos cadenas pesadas codificadas por la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 47.
- 45 Incluso más preferentemente, este comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera que es idéntica a la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 35; y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada que es idéntica a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 47.
- 50 El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con la presente invención, comprende preferentemente dos cadenas ligeras, en las que los aminoácidos de la cadena ligera son idénticos a la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 35; y dos cadenas pesadas en las que la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada es idéntica a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 47.

Preferentemente, este comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y una cadena pesada que tiene una región constante de la cadena pesada de IgG4.

Más preferentemente, este comprende dos cadenas ligeras que tienen la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y dos cadenas pesadas que tienen una región constante de la cadena pesada de IgG4.

- 5 De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con la presente invención y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo con un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona un anticuerpo monoclonal contra c-Met, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en las que LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53), LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54), LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos QVYSGYPLT (SEQ ID NO: 56), HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65), HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRRGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 68) y HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos ANWLDY (SEQ ID NO: 69), para uso en el tratamiento del cáncer de hígado en un ser humano.

Por consiguiente, la presente invención proporciona:

Un anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que:

- 20 a) se une a un epítipo dentro de la cadena α de c-Met humano, y
b) induce la internalización del c-Met humano de la superficie celular.

Uno cualquiera de los anticuerpos anteriores o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo induce la internalización independiente del factor de crecimiento de hepatocitos de c-Met humano de la superficie celular. En una realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40. En otra realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.

30 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que induce la internalización de c-Met humano en células que comprenden una variante de c-Met humano que contiene una mutación de ganancia de función. La mutación de ganancia de función puede ser una mutación del dominio quinasas de c-Met M1149T o mutación en el dominio yuxtamembrana R988C.

35 Cualquiera de los anticuerpos anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo induce al menos el 40 % de internalización en las células del c-Met humano de superficie celular. Cualquiera de los anticuerpos anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo induce al menos el 45 % de internalización en las células del c-Met humano de superficie celular. Cualquiera de los anticuerpos anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo induce al menos el 50 % de internalización en las células del c-Met humano de superficie celular. Cualquiera de los anticuerpos anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo induce al menos el 55 % de internalización en las células del c-Met humano de superficie celular. Cualquiera de los anticuerpos anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo induce al menos el 60 % de internalización en las células del c-Met humano de superficie celular. Cualquiera de los anticuerpos anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo induce al menos el 65 % de internalización en las células del c-Met humano. Cualquiera de los anticuerpos anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo induce al menos el 70 % de internalización en las células del c-Met humano de superficie celular.

50 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que induce la reducción del c-Met total en las células tumorales independientes del factor de crecimiento de hepatocitos. En una realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo que induce una reducción del c-Met total en células tumorales independientes del factor de crecimiento de hepatocitos comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40. En otra realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo que induce una reducción del c-Met total en células tumorales independientes del factor de crecimiento de hepatocitos comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la

SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.

Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que induce la reducción de c-Met fosforilado en células tumorales independientes del factor de crecimiento de hepatocitos.

- 5 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se une a la cadena α del c-Met humano en sustancialmente al mismo epítipo que un anticuerpo que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 28 y una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 40, o que se une a la cadena α del c-Met humano en sustancialmente al mismo epítipo que un anticuerpo que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 29 y una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 41.

- 15 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, exceptuando los que comprenden una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 26 y una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 38, en el que el epítipo comprende uno o más restos de aminoácido dentro de ¹⁴⁴HVFPNHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO: 82) inclusive.

Uno cualquiera de los anticuerpos anteriores o fragmentos de unión a antígeno, en el que el epítipo comprende adicionalmente uno o más restos de aminoácido dentro de ¹²³DTYYDD₁₂₈ (SEQ ID NO: 81) inclusive.

Uno cualquiera de los anticuerpos anteriores o fragmentos de unión a antígeno, en el que el epítipo comprende adicionalmente uno o más restos de aminoácido dentro de ¹⁹²FINF₁₉₅ (SEQ ID NO: 83) inclusive.

- 20 Uno cualquiera de los anticuerpos anteriores o fragmentos de unión a antígeno, en el que el epítipo comprende adicionalmente uno o más restos de aminoácido dentro de ²²⁰KETKDGFM₂₂₇ (SEQ ID NO: 84) inclusive.

Uno cualquiera de los anticuerpos anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo se une dentro de una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en:

- 25 a) ¹²¹VVDYYDDQL₁₃₀ (SEQ ID NO:77),
 b) ¹³¹ISCGSVNRGTCQRHVFPNHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO:78),
 c) ¹⁷⁹ALGAKVLSSVKDRFINF₁₉₅ (SEQ ID NO:79), y
 d) ²¹⁶VRRLKETKDGFM₂₂₇ (SEQ ID NO:80),

inclusive.

- 30 Uno cualquiera de los anticuerpos anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo se une dentro de una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en:

- a) ¹²³DTYYDD₁₂₈ (SEQ ID NO:81),
 b) ¹⁴⁴HVFPNHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO: 82),
 c) ¹⁹²FINF₁₉₅ (SEQ ID NO:83), y
 d) ²²⁰KETKDGFM₂₂₇ (SEQ ID NO:84),

- 35 inclusive.

Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión al antígeno del mismo, que se unen a una secuencia de aminoácidos dentro del epítipo caracterizado por ¹²¹VVDYYDDQL₁₃₀ (SEQ ID NO:77), ¹³¹ISCGSVNRGTCQRHVFPNHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO:78), ¹⁷⁹ALGAKVLSSVKDRFINF₁₉₅ (SEQ ID NO:79) y ²¹⁶VRRLKETKDGFM₂₂₇ (SEQ ID NO:80), inclusive.

- 40 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión al antígeno del mismo, que se unen a una secuencia de aminoácidos dentro del epítipo caracterizado por ¹²³DTYYDD₁₂₈ (SEQ ID NO: 81), ¹⁴⁴HVFPNHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO: 82), ¹⁹²FINF₁₉₅ (SEQ ID NO: 83) y ²²⁰KETKDGFM₂₂₇ (SEQ ID NO: 84), inclusive.

- 45 Uno cualquiera de los anticuerpos anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo se une dentro de una secuencia de aminoácidos de ⁹⁵CFPCQDCSSKA₁₀₅ (SEQ ID NO: 86), inclusive.

Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, exceptuando los que comprenden una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 29 y una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 41, en el que el epítipo comprende uno o más restos de aminoácido dentro de ⁹⁵CFPCQDCSSKA₁₀₅ (SEQ ID NO: 86) inclusive.

- 50 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se une a c-Met humano, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR),

en el que dichas tres LCDR y dichas tres HCDR se seleccionan del grupo que consiste en:

- a) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos GTSX₁LX₂S (SEQ ID NO: 87), en el que X₁ es Y o R, y X₂ es A o R;
- 5 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYX₇EX₈FKG (SEQ ID NO: 90), en la que X₇ es N, I, o R, y X₈ es K o P; y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFX₉Y (SEQ ID NO: 91), en la que X₉ es Y o F; y
- 10 b) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVX₃SIYLH (SEQ ID NO: 88), en la que X₃ es S o R;
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54);
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos X₄X₅YX₆GYPLT (SEQ ID NO: 89), en la que X₄ es I o Q, X₅ es Q o V, y X₆ es S o R;
- 15 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPX₁₀RX₁₁X₁₂TTYNQKFEG (SEQ ID NO: 92), en la que X₁₀ es N o Y, X₁₁ es G o R, y X₁₂ es G o S; y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos X₁₃NX₁₄LDY (SEQ ID NO: 93), en la que X₁₃ es T o A, y X₁₄ es W o I;
- 20 en el que dicho anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se une a un epítipo dentro de la cadena α de dicho c-Met humano e induce la internalización del c-Met humano de superficie celular.

Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se une a c-Met humano, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en el que el anticuerpo comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en el que

25 LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49);
 LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos GTSX₁LX₂S (SEQ ID NO: 87), en el que X₁ es Y o R, y X₂ es A o R;
 LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51);
 HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59);
 HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYX₇EX₈FKG (SEQ ID NO: 90), en la que X₇ es N, I, o R, y X₈ es K o P; y
 HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFX₉Y (SEQ ID NO: 91), en la que X₉ es Y o F.

Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se une a c-Met humano, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en el que

35 LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVX₃SIYLH (SEQ ID NO: 88); en la que X₃ es S o R;
 LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54);
 LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos X₄X₅YX₆GYPLT (SEQ ID NO: 89), en la que X₄ es I o Q, X₅ es Q o V, y X₆ es S o R;

40 HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65);
 HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos RVNPX₁₀RX₁₁X₁₂TTYNQKFEG (SEQ ID NO: 92), en la que X₁₀ es N o Y, X₁₁ es G o R, y X₁₂ es G o S; y
 HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos X₁₃NX₁₄LDY (SEQ ID NO: 93), en el que X₁₃ es T o A, y X₁₄ es W o I.

45

Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se une a c-Met humano, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), y en el que dichas tres LCDR y dichas tres HCDR se seleccionan del grupo que consiste en:

- 50 a) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos GTSYLAS (SEQ ID NO: 50);
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYNEKFKG (SEQ ID NO: 60); y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFYY (SEQ ID NO: 61);
- 55 b) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos GTSYLAS (SEQ ID NO: 50);
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYIEKFKG (SEQ ID NO: 62); y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFYY (SEQ ID NO: 63);
- 60

5 c) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos GTSRLRS (SEQ ID NO: 52);
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYREPFKG (SEQ ID NO: 64); y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFYY (SEQ ID NO: 61);

10 d) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54);
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos IQYSGYPLT (SEQ ID NO: 55);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRRGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 66); y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos TNWLDY (SEQ ID NO: 67);

15 e) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54);
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QVYSGYPLT (SEQ ID NO: 56);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRRGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 68); y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos ANWLDY (SEQ ID NO: 69); y

20 f) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVRSIYLH (SEQ ID NO: 57);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54);
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QVYRGYPLT (SEQ ID NO: 58);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRRGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 70); y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos ANILDY (SEQ ID NO: 71); y
 25 en el que dicho anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, se une a un epítipo dentro de la cadena α de dicho c-Met humano e induce la internalización de c-Met humano de superficie celular.

30 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en el que dichas tres LCDR y dichas tres HCDR se seleccionan del grupo que consiste en:

35 a) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos GTSYLAS (SEQ ID NO: 50);
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYNEKFKG (SEQ ID NO: 60); y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFYY (SEQ ID NO: 61);

40 b) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos GTSYLAS (SEQ ID NO: 50);
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYIEKFKG (SEQ ID NO: 62); y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFFY (SEQ ID NO: 63);

45 c) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos GTSRLRS (SEQ ID NO: 52);
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYREPFKG (SEQ ID NO: 64); y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFYY (SEQ ID NO: 61);

50 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en el que dichas tres LCDR y dichas tres HCDR se seleccionan del grupo que consiste en:

55 a) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54);
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos IQYSGYPLT (SEQ ID NO: 55);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRRGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 66); y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos TNWLDY (SEQ ID NO: 67);

5 b) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54);
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QVYSGYPLT (SEQ ID NO: 56);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRRGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 68); y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos ANWLDY (SEQ ID NO: 69); y

10 c) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVRSIYLH (SEQ ID NO: 57);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54);
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QVYRGYPLT (SEQ ID NO: 58);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNYRGSTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 70); y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos ANILDY (SEQ ID NO: 71).

15 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en el que:

20 LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54);
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos IQYSGYPLT (SEQ ID NO: 55);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRRGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 66); y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos TNWLDY (SEQ ID NO: 67);

Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en el que:

25 LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53);
 LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54);
 LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos QVYSGYPLT (SEQ ID NO: 56);
 HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65);
 HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos
 30 RVNPNRRGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 68); y
 HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos ANWLDY (SEQ ID NO: 69).

35 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) y una región variable de la cadena pesada (HCVR), en el que dicha LCVR y dicha HCVR, respectivamente, comprenden secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en:

- a) SEQ ID NO: 94 y SEQ ID NO: 96; y
- b) SEQ ID NO: 95 y SEQ ID NO: 97,

en el que dicho anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, se une a un epítipo dentro de la cadena α de dicho c-Met humano e induce la internalización de c-Met humano de superficie celular.

40 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) y una región variable de la cadena pesada (HCVR), en el que dicha LCVR comprende la SEQ ID NO: 94 y dicha HCVR comprende la SEQ ID NO: 96.

45 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) y una región variable de la cadena pesada (HCVR), en el que dicha LCVR comprende la SEQ ID NO: 95 y dicha HCVR comprende la SEQ ID NO: 97.

Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, en el que dicha LCVR y dicha HCVR comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en:

- 50 a) LCVR es la SEQ ID NO: 1 y HCVR es la SEQ ID NO: 13;
- b) LCVR es la SEQ ID NO: 2 y HCVR es la SEQ ID NO: 14;
- c) LCVR es la SEQ ID NO: 3 y HCVR es la SEQ ID NO: 15;
- d) LCVR es la SEQ ID NO: 4 y HCVR es la SEQ ID NO: 16;
- e) LCVR es la SEQ ID NO: 5 y HCVR es la SEQ ID NO: 17; y
- f) LCVR es la SEQ ID NO: 6 y HCVR es la SEQ ID NO: 18.

55

Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, en el que dicha LCVR y dicha HCVR, respectivamente, comprenden secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en:

- 5 a) LCVR es la SEQ ID NO: 1 y HCVR es la SEQ ID NO: 13;
 b) LCVR es la SEQ ID NO: 2 y HCVR es la SEQ ID NO: 14; y
 c) LCVR es la SEQ ID NO: 3 y HCVR es la SEQ ID NO: 15.

Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, en el que dicha LCVR y dicha HCVR, respectivamente, comprenden secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en:

- 10 a) LCVR es la SEQ ID NO: 4 y HCVR es la SEQ ID NO: 16;
 b) LCVR es la SEQ ID NO: 5 y HCVR es la SEQ ID NO: 17; y
 c) LCVR es la SEQ ID NO: 6 y HCVR es la SEQ ID NO: 18.

15 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, en el que dicha LCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y dicha HCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16.

Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, en el que dicha LCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y dicha HCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17.

20 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores, en el que dicho anticuerpo comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera y la cadena pesada comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en:

- 25 a) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 25 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 37;
 b) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 26 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 38;
 c) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 27 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 39;
 d) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 28 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 40;
 e) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 41; y
 f) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 30 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 42.

30 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores, en el que dicho anticuerpo comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera y la cadena pesada comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en

- a) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 25 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 37;
 b) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 26 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 38; y
 c) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 27 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 39.

35 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores, en el que dicho anticuerpo comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera y la cadena pesada comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en:

- a) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 28 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 40;
 b) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 41; y
 c) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 30 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 42.

40 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores, en el que dicha cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y dicha cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40.

45 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores, en el que dicha cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y dicha cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.

Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores, en el que dicho anticuerpo comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40.

50 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores, en el que dicho anticuerpo comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.

Un anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, que compite con cualquiera de los anticuerpos monoclonales contra c-Met anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, por la unión a c-

- Met. Tal anticuerpo monoclonal competitivo o fragmento de unión a antígeno del mismo se puede unir al mismo epítipo de c-Met que uno cualquiera de los anteriores anticuerpos monoclonales contra c-Met o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. En una realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo compite con un anticuerpo que comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40. En otra realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo compite con un anticuerpo que comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.
- Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, que induce la reducción del c-Met humano total y c-Met humano fosforilado en células tumorales independientes del factor de crecimiento de hepatocitos que sobreexpresan de forma constitutiva dicho c-Met humano. En una realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo que induce reducción del c-Met humano total y el c-MET humano fosforilado en células tumorales independientes del factor de crecimiento de hepatocitos que sobreexpresan de forma constitutiva dicho c-Met humano, comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40. En otra realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo que induce reducción del c-Met humano total y c-Met humano fosforilado en células tumorales independientes del factor de crecimiento de hepatocitos que sobreexpresan de forma constitutiva dicho c-Met humano, comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.
- Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, que induce la reducción del c-Met humano total y c-Met humano fosforilado en células tumorales independientes del factor de crecimiento de hepatocitos que fosforilan de forma constitutiva dicho c-Met humano. En una realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo que induce reducción del c-Met humano total y el c-MET humano fosforilado en células tumorales independientes del factor de crecimiento de hepatocitos, que fosforilan de forma constitutiva dicho c-Met humano, comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40. En otra realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo que induce reducción del c-Met humano total y c-Met humano fosforilado en células tumorales independientes del factor de crecimiento de hepatocitos, que fosforilan de forma constitutiva dicho c-Met humano, comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.
- Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, que induce la reducción del c-Met humano total y c-Met humano fosforilado en las células tumorales independientes del factor de crecimiento de hepatocitos, que son reactivas al factor de crecimiento de hepatocitos.
- Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, que se une preferentemente al dominio extracelular de c-Met humano en comparación con el dominio extracelular de RON humano RON o el dominio extracelular de Plexina A2 humana.
- Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, que no induce desprendimiento del dominio extracelular de c-Met humano. En una realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo que no induce desprendimiento del dominio extracelular de c-Met humano, comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40. En otra realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo que no induce desprendimiento del dominio extracelular de c-Met humano, comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.
- Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, que no protege a las células tumorales que expresan c-Met humano de la apoptosis inducida por estaurosporina. En una realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo que no protege a las células tumorales que expresan c-Met humano de la apoptosis inducida por estaurosporina, comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40. En otra realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo que no protege a las células tumorales que expresan c-Met humano de la apoptosis inducida por estaurosporina, comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.

Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, que inhibe la proliferación dependiente del factor de crecimiento de hepatocitos y la independiente del factor de crecimiento hepatocitos, de células tumorales que expresan el c-Met humano.

5 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, que inhibe la unión del factor de crecimiento de hepatocitos humano al c-Met humano.

10 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, que no induce actividades agonistas biológicas similares a HGF. Las actividades agonistas biológicas similares a HGF incluyen la proliferación de células tumorales, la motilidad de células tumorales, la invasión de células tumorales, la tubulogénesis, la angiogénesis y los efectos anti apoptóticos. En una realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo que no induce actividades agonistas biológicas similares a HGF, comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.

15 Una composición farmacéutica, que comprende uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

20 Uno cualquiera de los anteriores anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión a antígeno del mismo, para uso en terapia. En una realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo para uso en terapia comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40. En otra realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo para uso en terapia comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.

25 Uno cualquiera de los anteriores anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión a antígeno del mismo, para uso en el tratamiento de un cáncer en un ser humano. En una realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo para uso en el tratamiento de un cáncer en un ser humano comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40. En otra realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo para uso en el tratamiento de un cáncer en un ser humano, comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.

35 Uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, para uso en el tratamiento de un cáncer en un ser humano en combinación con otro agente terapéutico. En una realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo para uso en el tratamiento de un cáncer en un ser humano en combinación con otro agente terapéutico, comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40. En otra realización preferente, el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo para uso en el tratamiento de un cáncer en un ser humano en combinación con otro agente terapéutico, comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.

40 Una composición farmacéutica, que comprende uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

45 Uso de uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un cáncer en un ser humano.

Un procedimiento de tratamiento de un cáncer, que comprende administrar a un paciente humano que lo necesite una cantidad eficaz de uno cualquiera de los anticuerpos monoclonales anteriores o fragmentos de unión a antígeno de los mismos.

50 **Definiciones**

55 Un anticuerpo de longitud completa tal como existe de forma natural, es una molécula de inmunoglobulina que comprende 2 cadenas pesadas (H) y 2 cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro. La porción amino-terminal de cada cadena incluye una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos, principalmente responsable del reconocimiento del antígeno a través de las regiones determinantes de complementariedad (CDR) contenidas en ellas. La porción carboxilo-terminal de cada cadena define una región constante, principalmente responsable de la función efectora.

Las CDR están intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco conservadas ("FR"). Cada región variable de la cadena ligera (LCVR) y región variable de la cadena pesada (HCVR) se compone de 3 CDR y 4 FR, dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las 3 CDR de la cadena ligera se denominan "LCDR1, LCDR2 y LCDR3" y las 3 CDR de la cadena pesada se denominan "HCDR1, HCDR2 y HCDR3". Las CDR contienen la mayor parte de los restos que forman interacciones específicas con el antígeno. La numeración y la posición de los restos de aminoácido de las CDR dentro de las regiones LCVR y HCVR están en conformidad con la convención de numeración de Kabat bien conocida.

Las cadenas ligeras se clasifican como kappa o lambda, y se caracterizan por una región constante particular, como se conoce en la técnica. Las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o epsilon, y definen el isotipo de un anticuerpo como IgG, IgM, IgA, IgD o IgE, respectivamente. Los anticuerpos IgG pueden dividirse además en subclases, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Cada tipo de cadena pesada se caracteriza por una región constante particular, con una secuencia bien conocida en la técnica.

Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "anticuerpo monoclonal" (Acm), como se aplica a los presentes compuestos de anticuerpo, se refiere a un anticuerpo que procede de una sola copia o clon que incluye, por ejemplo, cualquier clon eucariota, procariota o de fago, y no al procedimiento por el cual se produce. Los Acm de la presente invención existen preferentemente en una población homogénea o sustancialmente homogénea. Los Acm completos contienen 2 cadenas pesadas y 2 cadenas ligeras. Los "fragmentos de unión a antígeno" de tales anticuerpos monoclonales incluyen, por ejemplo, fragmentos Fab, los fragmentos Fab', fragmentos F(ab')₂, fragmentos Fv monocatenarios y anticuerpos de un solo brazo que comprenden una cadena ligera y una cadena pesada. Los anticuerpos monoclonales y fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la presente invención se pueden producir, por ejemplo, mediante tecnologías recombinantes, tecnologías de presentación en fagos, tecnologías sintéticas, por ejemplo, injerto de CDR o combinaciones de tales tecnologías, u otras tecnologías conocidas en la técnica.

"Compuestos de anticuerpo" se refiere a los Acm y Fab desvelados en el presente documento. Los compuestos de anticuerpo adicionales que presentan propiedades funcionales similares de acuerdo con la presente invención se pueden generar por procedimientos convencionales. Por ejemplo, pueden inmunizarse ratones con c-Met humano o fragmentos de lo mismo, los anticuerpos resultantes pueden recuperarse y purificarse, y la determinación de si poseen propiedades de unión y funcionales similares a, o las mismas que, los compuestos de anticuerpo desvelados en el presente documento, pueden evaluarse por los procedimientos desvelados a continuación en los Ejemplos 2-19. Los fragmentos de unión a antígeno también se pueden preparar por procedimientos convencionales. Los procedimientos de producción y purificación de anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno son bien conocidos en la técnica y se pueden encontrar, por ejemplo, en Harlow y Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, capítulos 5 - 8 y 15, ISBN 0-87969-314-2.

La expresión "anticuerpos humanos técnicamente diseñados" se refiere a anticuerpos monoclonales y fragmentos de unión a antígeno, además de los compuestos de anticuerpo desvelados en el presente documento, que tienen propiedades de unión y funcionales de acuerdo con la invención similares a los desvelados en el presente documento, y que tienen regiones marco conservadas que son sustancialmente humanas o completamente humanas que rodean a las CDR procedentes de un anticuerpo no humano. "Región marco conservada" o "secuencia marco conservada" se refiere a una cualquiera de las regiones marco conservadas 1 a 4. Los anticuerpos humanos técnicamente diseñados y fragmentos de unión a antígeno abarcados por la presente invención incluyen moléculas en las que una cualquiera o más de las regiones marco conservadas 1 a 4 es sustancialmente o completamente humana, es decir, en la que está presente cualquiera de las posibles combinaciones de las regiones marco conservadas individuales sustancialmente o completamente humanas 1 a 4. Por ejemplo, esto incluye moléculas en las que la región marco conservada 1 y la región marco conservada 2, la región marco conservada 1 y la región marco conservada 3, la región marco conservada 1, 2, y 3, etc. son sustancialmente o totalmente humanas. Los armazones sustancialmente humanos son los que tienen al menos aproximadamente el 80 % de identidad de secuencia con una secuencia marco conservada de la estirpe germinal humana conocida. Preferentemente, los armazones sustancialmente humanos tienen al menos aproximadamente el 85 %, aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 95 % o aproximadamente el 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de armazón de una estirpe germinal humana conocida.

Los armazones completamente humanos son los que son idénticos a una secuencia de armazón de estirpe germinal humana conocida. Las secuencias de la estirpe germinal de armazón marco humanas pueden obtenerse de ImMunoGeneTics (IMGT) a través de su sitio en internet <http://imgt.cines.fr>, o de *The Immunoglobulin FactsBook* de Marie-Paule Lefranc y Gerard Lefranc, Academic Press, 2001, ISBN 012441351. Por ejemplo, los armazones de la cadena ligera de la estirpe germinal se pueden seleccionar del grupo que consiste en: A11, A17, A18, A19, A20, A27, A30, LI, L11, L12, L2, L5, L15, L6, L8, O12, O2 y O8, y las regiones marco conservadas de la cadena pesada de la estirpe germinal se pueden seleccionar del grupo que consiste en: VH2-5, VH2-26, VH2-70, VH3-20, VH3-72, VHI-46, VH3-9, VH3-66, VH3-74, VH4-31, VHI-18, VHI-69, VI-13-7, VH3-11, VH3-15, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-48, VH4-39, VH4-59 y VH5-51.

Los anticuerpos humanos técnicamente diseñados, además de los desvelados en el presente documento, que presentan propiedades funcionales similares de acuerdo con la presente invención, pueden generarse utilizando varios procedimientos diferentes. En un enfoque, las CDR del compuesto de anticuerpo parental se injertan en un armazón humano que tiene una alta identidad de secuencia con el armazón del compuesto de anticuerpo parental.

5 La identidad de secuencia del nuevo armazón será generalmente de al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 85 %, al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 % o al menos aproximadamente el 99 % idéntica a la secuencia del armazón correspondiente en el compuesto de anticuerpo parental. En el caso de los armazones que tienen menos de 100 restos de aminoácido, se puede cambiar uno, dos, o tres restos de aminoácido. Este injerto puede dar como resultado una reducción en la afinidad de unión en

10 comparación con la del anticuerpo parental. Si este es el caso, el armazón puede retromutarse al armazón parental en determinadas posiciones basándose en criterios específicos desvelados por Queen y col. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:2869. Las referencias adicionales que describen procedimientos útiles en la humanización de anticuerpos de ratón incluyen las patentes de Estados Unidos N.º 4.816.397; 5.225.539 y 5.693.761; los programas de ordenador ABMOD y ENCAD, como se describe en Levitt (1983) *J. Mol. Biol.* 168:595 - 620; y el procedimiento de Winter y colaboradores (Jones y col. (1986) *Nature* 321:522 - 525; Riechmann y col. (1988) *Nature* 332:323 - 327; y Verhoeven y col. (1988) *Science* 239:1534 - 1536.

La identificación de los restos a considerar para la retromutación se puede llevar a cabo de la siguiente manera.

20 Cuando un aminoácido está incluido en la siguiente categoría, el aminoácido de armazón de la secuencia de la estirpe germinal humana que se está utilizando (el "armazón aceptor") se sustituye por un aminoácido de armazón de un armazón del compuesto de anticuerpo parental (el "armazón donante").

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

30 Cuando cada uno de los aminoácidos en la región marco conservada humana del armazón aceptor y un aminoácido correspondiente en el armazón donante es generalmente inusual para armazones humanos en esa posición, tal aminoácido puede reemplazarse por un aminoácido típico para armazones humanos en esa posición. Este criterio de retromutación permite recuperar la actividad del compuesto de anticuerpo parental.

Otro enfoque para la generación de anticuerpos humanos técnicamente diseñados que presentan propiedades funcionales similares a las de los compuestos de anticuerpo desvelados en el presente documento, implica la mutación al azar de aminoácidos dentro de las CDR injertadas sin cambiar el armazón, y explorar las moléculas resultantes para la afinidad de unión y otras propiedades funcionales, que sean tan buenas o mejores que las de los compuestos de anticuerpo parental. Las mutaciones individuales también pueden introducirse en cada posición de aminoácido dentro de cada CDR, seguido de la evaluación de los efectos de tales mutaciones sobre la afinidad de unión y otras propiedades funcionales. Las mutaciones individuales que producen propiedades mejoradas se pueden combinar para evaluar sus efectos en combinación entre sí.

40 Además, es posible una combinación de ambos de los enfoques anteriores. Después del injerto de CDR, se pueden retromutar regiones marco conservadas específicas además de introducir cambios de aminoácidos en las CDR. Esta metodología se describe en Wu y col. (1999) *J. Mol. Biol.* 294:151 - 162.

45 Aplicando las enseñanzas de la presente invención, un experto en la materia puede utilizar las técnicas comunes, por ejemplo, mutagénesis dirigida, para sustituir los aminoácidos dentro de las secuencias marco conservadas y las CDR actualmente desveladas y, de ese modo, generar secuencias de aminoácidos de la región variable adicionales obtenidas de la secuencias presentes. Se puede introducir hasta todos los aminoácidos de origen natural en un sitio de la sustitución específico. Los procedimientos desvelados en el presente documento pueden utilizarse después para explorar estas secuencias de aminoácidos de la región variable adicionales, para identificar secuencias que tengan las funciones *in vivo* indicadas. De esta manera, pueden identificarse secuencias adicionales adecuadas para la preparación de anticuerpos humanos técnicamente diseñados y porciones de unión a antígeno de los mismos, en conformidad con la presente invención. Preferentemente, la sustitución de aminoácidos dentro de los armazones está restringida a una, dos o tres posiciones dentro de una cualquiera o más de las 4 regiones marco conservadas de la cadena ligera y/o la cadena pesada desveladas en el presente documento. Preferentemente, la sustitución de aminoácidos dentro de las CDR está restringida a una, dos, o tres posiciones dentro de una cualquiera o más de las 3 CDR de la cadena ligera y/o la cadena pesada. Las combinaciones de los diversos cambios dentro de estas regiones marcos conservadas y las CDR descritas anteriormente también son posibles.

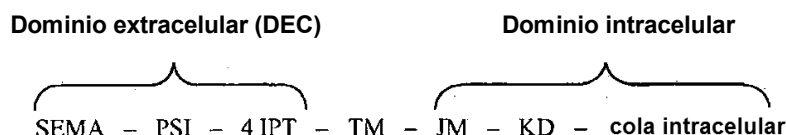
55 Que las propiedades funcionales de los compuestos de anticuerpo generados mediante la introducción de las modificaciones de aminoácidos descritas anteriormente se ajustan a las presentadas por las moléculas específicas desveladas en el presente documento puede confirmarse por los procedimientos descritos a continuación en los Ejemplos 2-19.

El término "epítopo" se refiere a una disposición específica de los aminoácidos emplazados en un péptido o proteína a la que un anticuerpo o fragmento de anticuerpo se une. Los epítopos a menudo consisten en una agrupación superficial de moléculas químicamente activas, tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar, y tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Los epítopos pueden ser lineales, es decir, que implican la unión a una única secuencia de aminoácidos, o conformacionales, es decir, que implican la unión a dos o más secuencias de aminoácidos en diversas regiones del antígeno que puede no ser necesariamente contiguas. Los epítopos desvelados en el presente documento pueden consistir en, consisten esencialmente en, o comprenden las secuencias de aminoácidos desveladas en el Ejemplo 3.

Los anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que "compiten" con las moléculas desveladas en el presente documento, son los que se unen a c-Met humano en el sitio (o los sitios) que son idénticos a, o se solapan con, el sitio (o los sitios) al que las presentes moléculas se unen. Los anticuerpos monoclonales competitivos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, se pueden identificar por ejemplo a través de un ensayo de competición de anticuerpos. Por ejemplo, una muestra de c-Met humano purificado o parcialmente purificado puede unirse a un soporte sólido. Luego, se añaden un compuesto de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de la presente invención y un anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo que se sospecha que tiene la capacidad de competir con tal compuesto de anticuerpo de la invención. Una de las dos moléculas está marcada. Si el compuesto marcado y el compuesto no marcado se unen a sitios discretos y distintos en c-Met, el compuesto marcado se unirá al mismo nivel esté o no presente el compuesto que se sospecha que es competitivo. Sin embargo, si los sitios de interacción son idénticos o solapantes el compuesto no marcado competirá y se reducirá la cantidad de compuesto marcado unida al antígeno. Si el compuesto no marcado está presente en exceso se unirá muy poco, si algo, del compuesto marcado. Para los fines de la presente invención, los anticuerpos monoclonales competitivos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos son los que disminuyen la unión de los presentes compuestos de anticuerpo a c-Met en aproximadamente el 50 %, aproximadamente el 60 %, aproximadamente el 70 %, aproximadamente el 80 %, aproximadamente el 85 %, aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 95 % o aproximadamente el 99 %. Los detalles de los procedimientos para llevar a cabo tales ensayos de competición son bien conocidos en la técnica y se pueden encontrar, por ejemplo, en Harlow y Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, páginas 567 - 569 y 15, ISBN 0-87969-314-2. Tales ensayos pueden hacerse cuantitativos utilizando anticuerpos purificados. Se establece una curva patrón por valoración de un anticuerpo contra sí mismo, es decir, el mismo anticuerpo se utiliza tanto como el marcador y el competidor. Se valora la capacidad de un anticuerpo monoclonal no marcado que compite o un fragmento de unión a antígeno del mismo, para inhibir la unión de la molécula marcada a la placa. Se representan los resultados y se comparan las concentraciones necesarias para alcanzar el grado deseado de inhibición de la unión. Se puede determinar si los anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que compiten con los compuestos de anticuerpo de la presente invención en tales ensayos de competición poseen las mismas, o similares, propiedades funcionales de los presentes compuestos de anticuerpo a través de los procedimientos desvelados en los Ejemplos 2-19 del presente documento.

Los anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen sustancialmente al mismo epítopo (o epítopos) de c-Met que los anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión a antígeno desvelados en el presente documento, son los que se unen a c-Met humano en el sitio (o sitios) que solapa con el sitio (o sitios) al que se unen las presentes moléculas. Los procedimientos que facilitan la identificación de anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen sustancialmente al mismo epítopo de c-Met que los anticuerpos monoclonales contra c-Met o fragmentos de unión a antígeno desvelados en el presente documento, son bien conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en la publicación internacional PCT WO 00/64946. Si tales anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión al antígeno de los mismos que se unen sustancialmente al mismo epítopo(o epítopos) de c-Met que los desvelados en el presente documento poseen las mismas, o similares, propiedades funcionales de los presentes compuestos de anticuerpo se puede determinar a través de los procedimientos desvelados en los Ejemplos 2-19 en el presente documento.

"c-Met" o " c-Met humano" se refiere a cualquier c-Met humano, así como formas mutadas funcionalmente activas de los mismos. La estructura del c-Met se representa esquemáticamente como:



SEMA: dominio Sema

PSI: dominio de plexina, semaforinas e integrinas

IPT: 4 dominios de Inmunoglobulinas, Plexinas y Factor de transcripción

TM: región transmembrana

JM: dominio yuxtamembrana

KD: dominio quinasa

5 En el DEC de c-Met humano (SEQ ID NO: 75), los aminoácidos 1-24 comprenden la secuencia señal. La proteína madura comienza en el aminoácido 25 (E). El dominio Sema consiste en aproximadamente 500 restos de aminoácido en el extremo N de c-Met y contiene la cadena α (restos de aminoácido 25-307) y parte de la cadena β (restos de aminoácido 308-519).

El término "inhibir" significa la capacidad para antagonizar sustancialmente, prohibir, prevenir, evitar, ralentizar, interrumpir, eliminar, detener, reducir o invertir los efectos biológicos de c-Met.

10 La expresión "que trata" (o "tratar" o "tratamiento") significa ralentizar, interrumpir, detener, controlar, detener, reducir o invertir la progresión o gravedad de un síntoma, trastorno, afección o enfermedad, pero no implica necesariamente una eliminación total de todos los síntomas relacionados con la enfermedad, afecciones o trastornos.

Los episodios agudos y las afecciones crónicas se pueden tratar. En un episodio agudo, se administra un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo al inicio de un síntoma, trastorno, afección o enfermedad, y se interrumpe cuando termina el episodio agudo. En cambio, un síntoma, trastorno, afección o enfermedad crónico se trata durante un período de tiempo más prolongado.

15 La expresión "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad o dosis de un compuesto de anticuerpo de la presente invención que, tras la administración de una sola dosis o de múltiples dosis a un paciente, proporciona el tratamiento o la prevención deseados. Las cantidades terapéuticamente efectivas de los presentes compuestos de anticuerpo pueden comprender una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg por dosis individual. Una cantidad terapéuticamente eficaz para cualquier paciente individual puede determinarla el profesional sanitario mediante el control del efecto de los compuestos de anticuerpo sobre un biomarcador, tal como c-Met de superficie celular en tejidos tumorales o no tumorales, regresión del tumor, etc. El análisis de los datos obtenidos por estos procedimientos permite la modificación del régimen de tratamiento durante la terapia, de modo que se administren cantidades óptimas de los compuestos de anticuerpo, se utilicen solos o en combinación con otro agente terapéutico, y de modo tal que también se pueda determinar la duración del tratamiento. De esta manera, la pauta posológica/de tratamiento puede modificarse en el transcurso de la terapia de manera que se administren las cantidades más bajas de compuestos de anticuerpo, utilizados solos o en combinación, que presentan una eficacia reductora del tumor satisfactoria, y de tal manera que la administración de tales compuestos continúa solo durante el tiempo necesario para tratar satisfactoriamente al paciente.

30 Los compuestos de anticuerpo de la presente invención pueden utilizarse como medicamentos en medicina humana, administrados por una diversidad de vías. Muy preferentemente, dichas composiciones son para administración parenteral. Tales composiciones farmacéuticas se pueden preparar mediante procedimientos bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19^a ed. (1995), A. Gennaro y col., Mack Publishing Co., y comprenden uno o más compuestos de anticuerpo desvelados en el presente documento, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

35 El término "tumor" se refiere a todo crecimiento y proliferación de células neoplásicas, ya sea malignas o benignas, y a todas las células y tejidos precancerosos y cancerosos. Los términos "cáncer", "canceroso" y "tumor" no son mutuamente excluyentes como se utilizan en el presente documento.

40 Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren o describen la afección fisiológica en mamíferos que se caracteriza normalmente por un crecimiento/proliferación celular anómalo. Los ejemplos de cánceres incluyen, pero sin limitación, carcinomas, linfomas, blastomas, sarcomas y leucemias.

c-Met y cáncer

45 Las rutas de c-Met con regulación alterada pueden inducirse por regulación por incremento transcripcional, amplificación del gen de c-Met, alteraciones genéticas específicas o mecanismos autocrinos o paracrinos dependientes de ligando. La causa más frecuente de la activación constitutiva de c-Met en tumores humanos es la expresión de proteínas aumentada como consecuencia de la regulación por incremento transcripcional en ausencia de amplificación del gen. Además, la amplificación del gen *MET*, con la consiguiente sobreexpresión proteica y la activación constitutiva de la quinasa, se ha informado en una serie de tumores primarios humanos, que incluyen carcinomas gástricos y esofágicos, carcinomas de pulmón no microcíticos (CPNM) carcinomas y meduloblastomas. Los tumores de origen mesenquimático, tales como osteosarcomas y rhabdomyosarcomas, a menudo utilizan mecanismos autocrinos mediante la producción de HGF. Los niveles elevados de HGF y la sobreexpresión de c-Met se asocian a menudo con malos desenlaces clínicos que incluyen enfermedad más agresiva, el aumento de la metástasis tumoral y una supervivencia del paciente acortada. Adicionalmente, los altos niveles de proteínas HGF y/o c-Met en los tumores confieren resistencia a la quimioterapia y la radioterapia. Además de la expresión anómala de HGF y de c-Met, la ruta de c-Met se puede activar a través de alteraciones genéticas, tales como mutaciones de c-Met, amplificación génica y reordenamiento génico. Se encuentran mutaciones de aminoácido de *c-MET* en todos los individuos con carcinomas papilares de células renales (CPCR) hereditarios bien caracterizados y en un pequeño subgrupo (13 %) de muestras de CPCR esporádico. Algunas de las mutaciones poseen potencial oncogénico debido a la actividad quinasa aumentada. La trisomía del cromosoma 7, donde residen los genes *HGF* y *c-MET*, se produce

con frecuencia en el CPCR y da como resultado la duplicación no aleatoria del alelo de *c-MET* mutante. Además, se han identificado mutaciones somáticas de *c-MET* en otros cánceres humanos, que incluyen cánceres gástricos, de cabeza y cuello, de hígado, de ovarios, de pulmón no microcítico y de tiroides, así como en las metástasis de algunos de estos cánceres. A diferencia del CPCR, donde las mutaciones normalmente están localizadas en el dominio quinasa, estas mutaciones a menudo se emplazan en otras regiones del receptor, por ejemplo, el dominio yuxtamembrana. Además de la mutación, el gen *c-MET* a menudo está amplificado en los cánceres de mama, hígado, cerebro, colorrectal, gástrico, de pulmón y de estómago, lo que se correlaciona con la progresión de la enfermedad en algunos pacientes.

Indicaciones terapéuticas

- 10 La señalización anómala de HGF/c-MET se ha documentado en una amplia diversidad de neoplasias malignas humanas, que incluyen cánceres de vejiga, de mama, de cuello uterino, colorrectal, de endometrio, esofágico, gástrico, de cabeza y cuello, de riñón, de hígado, de pulmón, nasofaríngeo, de ovarios, de páncreas, de próstata y de tiroides, así como colangiocarcinoma, osteosarcoma, rhabdomyosarcoma, sarcoma sinovial, sarcoma de Kaposi, leiomiomas y HFM/fibrosarcoma. Además, la expresión anómala de HGF y/o c-Met también se ha informado en neoplasias hematológicas tales como leucemia mielógena aguda, leucemia de linfocitos T del adulto, leucemia mieloide crónica, linfomas y mieloma múltiple, así como otros tumores tales como melanoma, mesotelioma, tumor de Wilms, glioblastomas y astrocitomas (resumidos en Liu y col. (2008) Expert Opin. Investig. Drugs 17(7):997-1011). Los anticuerpos contra c-Met de la presente invención pueden inhibir tanto a los tumores dependientes de HGF como a los independientes de HGF.
- 20 Los siguientes ejemplos no limitativos ilustran diversos aspectos de la presente invención.

En los siguientes ejemplos, los anticuerpos de control IgG2 e IgG4 humanizados, e IgG murino (también denominado en ocasiones mlgG1) son anticuerpos de control de isotipo no relacionados con los presentes anticuerpos contra c-Met. Los anticuerpos C8, D11 y optD11 son anticuerpos murinos. En todos los casos, el HGF humano se obtiene de R&D Systems (n.º 294).

Ejemplo 1

Anticuerpos contra c-Met

Las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de la cadena ligera y la cadena pesada, las cadenas ligera y pesada completas y las respectivas secuencias de nucleótidos codificantes de las anteriores, de los presentes anticuerpos humanos técnicamente diseñados, se enumeran a continuación en la sección titulada "Secuencias de aminoácidos y nucleótidos". Las secuencias de aminoácidos de las CDR de la cadena ligera y la cadena pesada se muestran en las Tablas 1 y 2, respectivamente.

Tabla 1. CDR de la cadena ligera

Anticuerpo	CDR 1	CDR 2	CDR 3
D11-S17Y	SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49)	GTSYLAS (SEQ ID NO: 50)	QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51)
D11-8B8	SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49)	GTSYLAS (SEQ ID NO: 50)	QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51)
D11-C27G3	SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49)	GTSRLRS (SEQ ID NO: 52)	QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51)
Secuencia consenso de D11	--	GTSX ₁ LX ₂ S (SEQ ID NO: 87)	--
C8-6	SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53)	STSNLAS (SEQ ID NO: 54)	IQYSGYPLT (SEQ ID NO: 55)
C8-H241	SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53)	STSNLAS (SEQ ID NO: 54)	QVYSGYPLT (SEQ ID NO: 56)
C8-co-16	SVSSSVRSIYLH (SEQ ID NO: 57)	STSNLAS (SEQ ID NO: 54)	QVYRGYPLT (SEQ ID NO: 58)
Secuencia consenso de C8	SVSSSVX ₃ SIYLH (SEQ ID NO: 88)	--	X ₄ X ₅ YX ₆ GYPLT (SEQ ID NO: 89)

X₁ es Y o R, y X₂ es A o R;
X₃ es S o R;
X₄ es I o Q, X₅ es Q o V, y X₆ es S o R;

Tabla 2. CDR de la cadena pesada

Anticuerpo	CDR 1	CDR 2	CDR 3
D11-S17Y	GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59)	WIYPVTGDTYYNEKFKG (SEQ ID NO: 60)	GYGAFYY (SEQ ID NO: 61)
D11-8B8	GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59)	WIYPVTGDTYYIEKFKG (SEQ ID NO: 62)	GYGAFFY (SEQ ID NO: 63)
D11-C27G3	GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59)	WIYPVTGDTYYREPFGK (SEQ ID NO: 64)	GYGAFYY (SEQ ID NO: 61)
Secuencia consenso de D11	--	WIYPVTGDTYYX ₇ EX ₈ FKG (SEQ ID NO: 90)	GYGAFX ₉ Y (SEQ ID NO: 91)
C8-6	GYTFTDYYMH (SEQ ID NO: 65)	RVNPNRGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 66)	TNWLDY (SEQ ID NO: 67)
C8-H241	GYTFTDYYMH (SEQ ID NO: 65)	RVNPNRRGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 68)	ANWLDY (SEQ ID NO: 69)
C8-co-16	GYTFTDYYMH (SEQ ID NO: 65)	RVNPNYRGSTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 70)	ANILDY (SEQ ID NO: 71)
Secuencia consenso de C8	--	RVNPNX ₁₀ RX ₁₁ X ₁₂ TTYNQKFEG (SEQ ID NO: 92)	X ₁₃ NX ₁₄ LDY (SEQ ID NO: 93)
X ₇ es N, I o R, y X ₈ es K o P; X ₉ es Y o F; X ₁₀ es N o Y, X ₁₁ es G o R, y X ₁₂ es G o S; X ₁₃ es T o A, y X ₁₄ es W o I;			

Las secuencias consenso para las regiones variables de las cadenas ligera y pesada de los anticuerpos D11- y C8-son:

5 **Secuencia consenso de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo D11 (SEQ ID NO: 94)**

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIY
 GTSX₁LX₂SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYSFG
 QGTKLEIK

en la que X₁ es Y o R, y X₂ es A o R;

Secuencia consenso de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo C8 (SEQ ID NO: 95)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSVSSSVX₃SIYLNHWYQQKPGKAPKLLIY
 STSNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCX₄YX₅YX₆GYPLTFG
 GGTKVEIK

10 en la que X₃ es S o R, X₄ es I o Q, X₅ es Q, o V, y X₆ es S o R;

Secuencia consenso de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo D11 (SEQ ID NO: 96)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGYTFTSRYIHWVRQAPGQGLEWMGW
 IYPVTGDTYYX₇EX₈FKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGY
 GAFX₉YWGQGLVTVS

en la que X₇ es N, I o R, X₈ es K o P, y X₉ es Y o F;

Secuencia consenso de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo C8 (SEQ ID NO: 97)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGR
 VNPX₁₀RX₁₁X₁₂TTYNQKFEGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARX₁₃
 NX₁₄LDYWGQGLVTVS

15

en la que X_{10} es Y o N, X_{11} es G o R, X_{12} es S o G, X_{13} es A o T, y X_{14} es I o W.

- Los anticuerpos se expresan transitoriamente en células HEK293 EBNA (Edge BioSystems, n.º 90500130) utilizando procedimientos de transfección convencionales. Las células transfectadas se cultivan en medio sin suero convencional que contiene geneticina (G418) y tobramicina, durante 48 a 120 horas a 37 °C después de la transfección. Los anticuerpos se purifican en una columna de rProteína A Sepharose de 60 ml (Amersham Biosciences, n.º 17-1279-04) siguiendo las instrucciones del fabricante, y se concentraron y se purificaron adicionalmente por cromatografía de exclusión por tamaño (XK50/60 Superdex200, Pharmacia) con solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4, como la fase móvil. Los anticuerpos se filtran después utilizando membranas de PVDF Millev-GV, de 0,22 µm, 33 mm, (Millipore, n.º SLGV033RS) y se reservaron a una temperatura de 4 a 8 °C.
- El anticuerpo contra c-Met IgG1 murino 5D5 (patente de Estados Unidos N.º 5.686.292) tratado en muchos de los ejemplos siguientes, se aísla y purifica a partir del hibridoma HB-11895 obtenido de la Colección Americana de Cultivos Tipo, Manassas, VA, como se describe anteriormente.

Ejemplo 2

Cinética de unión de los anticuerpos contra c-Met a diversos dominios extracelulares de c-Met

- Los dominios extracelulares (DEC) de las secuencias de c-Met humano, de mono cinomolgo y de rata se expresan como proteínas de fusión de Fc con una etiqueta flag e His (etiqueta Flis) en el extremo C del Fc (las SEQ ID NO: 72-74). Estas proteínas de fusión de DEC de c-Met Fc se expresan por separado transitoriamente en células HEK293 EBNA y se purifican como se describe en el Ejemplo 1.

- Para medir la cinética de unión de los anticuerpos contra c-Met a los DEC de c-Met humano, de mono cinomolgo y de rata, se utiliza un instrumento Biacore® 2000. Las mediciones se realizan a 25 °C. Las muestras se disuelven en tampón HBS-EP (cloruro de sodio 150 mM, EDTA 3 mM, tensioactivo P-20 al 0,005 % (p/v) y ácido N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-etanosulfónico (HEPES) 10 mM a pH 7,4; n.º BR-1001-1088). El fragmento F(ab')₂ de anticuerpo de cabra contra IgG humana, fragmento F(ab')₂ específico (Jackson ImmunoResearch Inc, n.º 109-006-097), se inmoviliza en las celdas de flujo 1 a 4 de una micromatriz detectora CM5 a un nivel de 4.000 unidades de respuesta (UR) utilizando química de acoplamiento de aminas para capturar los anticuerpos contra c-Met.

- La unión se evalúa utilizando múltiples ciclos. Cada ciclo se realiza a un caudal de 50 µl/min y consiste en las siguientes etapas: inyección de aproximadamente 10 µl de un anticuerpo contra c-Met a 10 µg/ml dirigido a una captura de 40-100 UR, inyección de 250 µl de DEC de c-Met-Flis-Fc de humano, de mono cinomolgo o de rata (a partir de 100 nM y utilizando diluciones en serie con factor dos para cada ciclo), seguido de 20 minutos para la disociación y la regeneración utilizando aproximadamente 30 µl de clorhidrato de glicina 10 mM, pH 1,5. Las velocidades de asociación y disociación para cada ciclo se evalúan utilizando un modelo "de unión 1: 1 (Langmuir)" en el programa informático BIAevaluation, versión 4.1. Para la unión del anticuerpo D11-S17Y al DEC de c-Met-Flis-Fc de rata, se utiliza un modelo de ligando heterogéneo para ajustar los datos de manera adecuada; por lo tanto, se obtienen dos afinidades de unión.

- Los resultados se muestran a continuación en las Tablas 3-5.

Tabla 3

Cinética de unión y afinidad de los anticuerpos contra c-Met para DEC c-Met-Flis-Fc humano			
Anticuerpo	k_{on} (1/Ms)	k_{off}(1/s)	K_D (nM)
D11-8B8	$1,0 \pm 0,1 \times 10^5$	$0,5 \pm 0,2 \times 10^{-4}$	$0,5 \pm 0,2$
D11-C27G3	$6,4 \pm 0,2 \times 10^4$	$0,9 \pm 0,2 \times 10^{-4}$	$1,4 \pm 0,3$
D11-S17Y	$0,7 \pm 0,1 \times 10^5$	$2,8 \pm 0,1 \times 10^{-4}$	$4,2 \pm 0,9$
C8-H241	$1,1 \pm 0,3 \times 10^5$	$< 10^{-5}$	$< 0,1$
C8-6	$1,6 \pm 0,4 \times 10^5$	$3 \pm 2 \times 10^{-4}$	4 ± 1
C8-col6	$1,1 \pm 0,2 \times 10^5$	$0,3 \pm 0,2 \times 10^{-4}$	$0,3 \pm 0,1$

Tabla 4

Cinética de unión y afinidad de los anticuerpos contra c-Met para DEC de c-Met-Flis-Fc de mono cinomolgo			
Anticuerpo	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	K_D (nM)
D11-8B8	$0,78 \pm 0,02 \times 10^5$	$2,23 \pm 0,07 \times 10^{-4}$	$2,9 \pm 0,2$
D11-C27G3	$0,5 \pm 0,1 \times 10^5$	$3,2 \pm 0,4 \times 10^{-4}$	$6,5 \pm 0,7$
D11-S17Y	$0,70 \pm 0,08 \times 10^5$	$3,6 \pm 0,5 \times 10^{-4}$	$5,1 \pm 0,2$
C8-H241	$0,80 \pm 0,06 \times 10^5$	$<10^{-5}$	$<0,2$
C8-6	$1,4 \pm 0,5 \times 10^5$	$4,5 \pm 0,2 \times 10^{-4}$	$3,6 \pm 1,1$
C8-co16	$1,03 \pm 0,02 \times 10^5$	$<10^{-5}$	$<0,1$

Tabla 5

Cinética de unión y afinidad de los anticuerpos contra c-Met para DEC de c-Met-Flis-Fc de rata						
Anticuerpo	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	K_D (pM)	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	K_D (nM)
D11-8B8	$2,1 \pm 0,2 \times 10^5$	$1,9 \pm 0,3 \times 10^{-4}$	$0,89 \pm 0,04$			
D11-C27G3	$1,3 \pm 0,1 \times 10^5$	$3,4 \pm 0,5 \times 10^{-4}$	$2,7 \pm 0,2$			
D11- S17Y	$0,66 \times 10^5$	189×10^{-4}	286	$2,5 \times 10^5$	$3,0 \times 10^{-4}$	1,2

- 5 Estos datos demuestran que los anticuerpos C8-H241, C8-6 y C8-CO16 se unen a los DEC de c-Met humanos y de monos cinomolgo con afinidad similar, pero no al DEC de c-Met de rata. Datos adicionales (no mostrados) indican que estos anticuerpos no se unen al DEC de c-Met de ratón hasta 100 nM de anticuerpo con DEC 1 µg/ml recubierto en placas de ELISA. Sin embargo, los anticuerpos D11-8B8, D11-C27G3 y D11-S17Y, se unen a los DEC de ser humano, de mono cinomolgo y de rata.

10 Ejemplo 3

Mapeo de epítomos

Los epítomos de los presentes anticuerpos frente c-Met se mapean mediante una combinación de espectrometría de masas con intercambio de hidrógeno-deuterio (HDXMS) (Yamada y col. (2002) Rapid Commun. Mass Spectrom. 16(4):293-299) y marcaje con policarbonato de dietilo (DEPC) (Mendoza y col. (2008) Analy. Chem. 80(8):2895-2904). La reacción de intercambio de hidrógeno-deuterio del dominio Sema de c-Met humano se lleva a cabo en presencia o ausencia de anticuerpos contra c-Met. Las regiones del dominio Sema que ganan menos deuterio en presencia de un anticuerpo que en su ausencia, se identifican como el epítomo (o epítomos) para el anticuerpo. El DEPC puede reaccionar con grupos amino de los restos de lisina o histidina expuestos en la superficie en el dominio Sema, formando etil carbamato lisina o histidina. Si estos aminoácidos se emplazan en la región epítomica, estarán protegidos y no reaccionarán con el DEPC tras la unión del anticuerpo. Esto ayuda a localizar más y/o a confirmar las regiones del epítomo determinadas mediante HDXMS.

25 **Expresión y purificación del dominio Sema de c-Met.** El dominio Sema de c-Met humano se expresa con una etiqueta Flis en el extremo C (SEQ ID NO: 76) en células HEK293 EBNA y se purifica como se describe en los Ejemplos 1 y 2. Después, la proteína purificada se reserva a 4 °C en PBS a pH 7,4. Este dominio se une a los anticuerpos contra c-Met de la presente invención con una afinidad similar a la de DEC de c-Met humano de longitud completa, lo que indica que los epítomos para estos anticuerpos se emplazan en esta región de c-Met humano.

30 **Desglucosilación y desialilación del dominio Sema de c-Met.** Para la N-glucosilación se tratan 100 µl de una solución de dominio Sema de c-Met humano 1,2 mg/ml con 1 µl de solución de PNGasa F (Prozyme, GKE-5006B) a 37 °C durante una noche. El análisis por CL/EM demuestra que la mayor parte de la proteína está desglucosilada después de este tratamiento. Por separado, se tratan 100 µl de una solución de dominio Sema de c-Met humano con 1,2 mg/ml con 2 µl de 10 U/ml de solución de neuraminidasa (Roche, nº Cat. 10 269 611 001) a 37 °C durante 1 hora, para desialilar el dominio Sema.

35 **Formación de complejos de dominio Sema de c-Met/Anticuerpo.** 10 µl de solución de dominio Sema de c-Met desglucosilado (1,2 mg/ml) se mezclan con una alícuota que contiene una solución de anticuerpo de 29 µg de proteína (2,07 µl de C8-H241, 2,01 µl de D11-8B8, o 3,87 µl de un Acm de control no relacionado) y después se diluye con una solución de PBS 1X hasta un volumen final de 40 µl. Por separado, 5 µl de la solución de dominio Sema de c-Met desialilado (1,2 mg/ml) se mezclan con una alícuota que contiene solución de anticuerpo de 14 µg de proteína (1,04 µl de C8-H241, 1,01 µl de D11-8B8 o 1,94 µl de un Acm de control no relacionado), y después se

diluye con una solución de PBS 1X hasta un volumen final de 15 µl. Cada una de las soluciones mezcladas de cada anticuerpo se somete después a análisis de HDXMS.

5 **Ensayos de HDXMS.** 4 µl de la mezcla de dominio Sema de c-Met desglucosilado o desialilado/anticuerpo se mezclan con 16 µl de D₂O al 100 % (Acros, Código 166310500; D al 80 % durante el intercambio) y se incuba a temperatura ambiente durante 90 segundos. Después, el intercambio se inactiva con 50 µl de ácido fórmico al 0,5 % (v/v) en agua a 0 °C. La solución inactivada se trata inmediatamente con 2 µl de una solución de pepsina 5 mg/ml (v/v) (Sigma, Cat. N.º P6887) a 0 °C durante 3,5 o 4 minutos. La solución digerida se inyecta inmediatamente de forma manual en una columna de RP-HPLC (Polymer Laboratories, Part n.º 1912-1802; 2,1 x 50 mm, tamaño de poro de 1000 Å, tamaño de partícula 8 µM). La corriente de tampón de HPLC para de la bomba de HPLC (Waters, 2795 HPLC) pasa a través de un tubo de metal (aproximadamente 1 ml) a un inyector manual. El eluato de la columna se pasa después a un espectrómetro de masas Micromass LCT Premier o SYNAPT. El tubo de metal, el circuito de inyección y la columna se sumergen en un baño de agua helada.

15 La columna se equilibra con A al 99 % (TFA (ácido trifluoroacético) acuoso al 0,05 % (v/v) y B al 1 % (TFA al 0,04 % (v/v) en acetonitrilo) a un caudal de 0,2 ml/min. Se realiza una elución por gradiente isocrático durante 1 minuto, del 1 al 10 % de B durante 1 minuto, hasta B al 40 % durante 12 minutos, hasta B al 90 % durante 4 minutos con una retención de 3 minutos, y después se devuelve rápidamente a las condiciones iniciales. La espectrometría de masas se lleva a cabo en un espectrómetro de masas Micromass LCT Premier con pulverización positiva, modo W, y los ajustes siguientes: un voltaje capilar de 1,5 kV, un voltaje de cono de 100 V, abertura 1 de 25 V, un intervalo de masa de 200 a 2.000, una temperatura de desolvatación de 150 °C, y un flujo de gas de desolvatación de 500 l/h. El espectro de masas de cada péptido péptico de c-Met se obtiene después del intercambio de D/H con o sin anticuerpo contra c-Met. La masa promedio de cada péptido se calcula de acuerdo a la distribución isotópica del pico del ion más intenso.

25 **Marcaje con DEPC de los complejos c-Met/Anticuerpo.** Se mezclan 8,3 µl de la solución de dominio Sema de c-Met humano 1,2 mg/ml con una solución de anticuerpos (24 µg de proteína: 1,71 µl de C8-H241, 1,67 µl de D11-8B8 o 3,2 µl de Acm de control no relacionado), y solución de PBS 1X hasta un volumen final de 76 µl. Cada mezcla de c-Met/anticuerpo se trata con 4 µl de DEPC 10 mg/ml (p/v) en isopropanol a temperatura ambiente, durante 5 minutos, y después se inactiva con 10 µl de histidina 20 mg/ml en tampón Tris-HCl 0,1 M, a pH 8, y 10 µl de lisina 0,2 mg/ml en tampón Tris-HCl 0,1 M a pH 8. Cada solución se mezcla con 5 µl de solución de tripsina porcina 0,2 mg/ml (p/v) (Promega, n.º Cat. V528A), y la mitad de la mezcla se mezcla con 0,5 µl de solución de ditiotreitól 50 mg/ml (p/v). Cada solución de muestra se incuba a 37 °C durante 5 horas y después se trata con 0,5 µl de solución de PNGasa F durante una hora adicional. Cada solución digerida se acidifica con 2 µl de solución de ácido acético al 10 % de (v/v). 2 µl de solución TCEP 100 mg/ml (clorhidrato de tris(2-carboxietil) fosfina (Sigma, n.º de Cat. C4702-2G) se añaden al digesto no reducido sin ditiotreitól añadido. Cada una de las soluciones se somete a análisis por CL/EM utilizando un espectrómetro de masas Waters Acquity UPLC y Waters SYNAPT. La HPLC utiliza una columna C8 Waters Acquity UPLC BEH (2,1x50 mm, 1,7 µm, Waters, parte n.º 186002877) a 60 °C, y los péptidos se eluyen con un gradiente de acetonitrilo en un sistema de fase móvil de HPLC de agua/acetonitrilo/TFA. Para los digestos se utiliza un tiempo de ejecución de 45 minutos. La columna se equilibra con A al 99 % (solución acuosa de TFA al 0,05 % (v/v)) y B al 1 % (TFA al 0,04 % (v/v) en acetonitrilo) a un caudal de 0,2 ml/min. Se realiza una elución por gradiente en estado isocrático durante 2 minutos, del 1 al 25 % de B durante 25 minutos, hasta B al 45 % durante 10 minutos, hasta B al 90 % durante 1 minuto, con una retención de 1,5 minutos (en el mismo periodo de tiempo, caudal de 0,3 ml/min) y después se devuelve rápidamente a B al 1 %.

35 **Resultados.** El Acm C8-H241 parece unirse un epítipo conformacional que comprende cuatro regiones del dominio Sema de c-Met, emplazado en el cadena α del dominio extracelular de c-Met humano (restos de aminoácido 25-307 de la SEQ ID NO: 75):

45 ¹²¹VVDYYDDQL¹³⁰ (SEQ ID NO:77),
¹³¹ISCGSVNRGTCQRHVFPNHHTADIQS¹⁵⁶ (SEQ ID NO:78),
¹⁷⁹ALGAKVLSSVKDRFINFF¹⁹⁶ (SEQ ID NO:79), y
²¹⁶VRRLKETKDGFM²²⁷ (SEQ ID NO:80).

50 Más particularmente, el Acm C8-H241 se une a c-Met interaccionando con uno o más restos de aminoácido dentro de:

¹²³DTYYDD¹²⁸ (SEQ ID NO: 81) inclusive,
¹⁴⁴HVFPNHHTADIQS¹⁵⁶ (SEQ ID NO: 82) inclusive,
¹⁹²FINF¹⁹⁵ (SEQ ID NO: 83) inclusive, y
²²⁰KETKDGFM²²⁷ (SEQ ID NO: 84) inclusive.

55 La unión del Acm C8-H241 a la región ¹⁴⁴HVFPNHHTADIQS¹⁵⁶ (SEQ ID NO: 82) lo hace capaz de unirse al dominio extracelular de c-Met humano (SEQ ID NO: 75) y de mono cinomolgo (aminoácidos 25 a 932 de la SEQ ID NO: 73) con una afinidad comparable, pero no a c-Met de rata o de ratón, hasta 100 nM de anticuerpo en los ensayos de unión.

La unión del Acm D11-8B8 a la cadena α del dominio Sema de c-Met parece estar emplazada en una región, es decir, los restos de aminoácido dentro de un epítipo lineal dentro de la secuencia de aminoácidos ⁸⁴YKTGPVLEHPDCFPCQDCSSKANL₁₀₇ (SEQ ID NO: 85) inclusive, más particularmente la región ⁹⁵CFPCQDCSSKA₁₀₅ (SEQ ID NO: 86) inclusive. El epítipo para el Acm D11-8B8 se confirmó adicionalmente por experimentos de extracción de epítopos (Dhungana y col. (2009) Methods Mol. Biol. 524:87-101). El dominio Sema de c-Met se digiere con tripsina porcina (Promega) y el producto de digestión se mezcla después con el Acm D11-8B8 biotinilado, utilizando el kit EZ-Link™ Sulfo-NHS-LC-Biotin (Pierce, Prod. N.º 1754210), para unir los péptidos de c-Met. El D11-8B8 biotinilado con o sin péptidos de c-Met unidos se captura por la resina de estreptavidina agarosa de alta capacidad (Thermo Scientific, Prod. n.º 20359). Los péptidos unidos se liberan mediante ácido fórmico al 0,15 % (v/v) en H₂O y después se identifican mediante CL/EM.

Ejemplo 4

Unión preferencial de anticuerpos contra c-Met frente a los DEC de RON y Plexina A2

Las proteínas humanas con la mayor identidad de secuencia con c-Met son RON y Plexina A2. En este experimento se compara la especificidad de la unión del anticuerpo contra c-Met a los DEC de c-Met, RON y Plexina A2.

Se recubren pocillos de placas de alta unión de 96 pocillos de EIA/RIA (Costar, n.º 2592) con 100 μ l de la fusión dominio extracelular (DEC) de c-Met humano-Fc-Flis 1 μ g/ml (SEQ ID NO: 72), DEC de RON-Fc (R&D Systems, n.º 1947-MS) o DEC de Plexina A2-Fc (Abnova, Taipei, Taiwán n.º H00005362-P01) en tampón de recubrimiento (BioFX Labs, n.º COAT-1000-01) durante la noche a 4 °C. Los pocillos se aspiran y los sitios de unión no específica se bloquean mediante la adición de 200 μ l de tampón de bloqueo (solución salina tamponada con Tris, a pH 8,0, con polisorbato 20 (Tween-20) al 0,05 % (v/v) (TBS-T) (BioFX Labs, n.º WSHW-1000-01) más seroalbúmina bovina (BSA) al 1 % (p/v) (Jackson Immuno, n.º 001-000-162) e incubando durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de lavar las placas tres veces con tampón de lavado (TBS-T), se añaden de 100 μ l/pocillo de diluciones en serie 1:6 de anticuerpos contra c-Met en tampón de bloqueo (a partir de 100 μ g/ml) y se incuban a temperatura ambiente durante 2 horas. Las placas se lavan y se incuban con 100 μ l/pocillo de F(ab)₂ de anticuerpo de cabra contra IgG humana conjugado con HRP (Jackson ImmunoResearch Labs de n.º 109-036-097) en tampón de bloqueo durante 90 minutos. Después de lavar las placas, se añaden 100 μ l/pocillo de solución de sustrato (BioFX, n.º TMBW-1000-01) y las placas se incuban durante 10 minutos a temperatura ambiente. Para detener la reacción se añaden 100 μ l/pocillo de solución de detención (BioFX, n.º LSTP-1000-01). Las señales colorimétricas se desarrollan y se leen a 450 nm utilizando un lector de placas SpectraMax 190 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). El anticuerpo contra c-Met de unión a los DEC de c-Met, RON y Plexina A2 es proporcional a la producción de la señal de color.

Como se muestra en la Tabla 6, ambos anticuerpos contra c-Met C8 y D11 de la presente invención se unen preferentemente al DEC de c-Met humano en comparación con el DEC de RON o los DEC de Plexina A2.

Tabla 6
Unión preferente de los anticuerpos contra c-Met a los DEC de c-Met humano contra los DEC de RON y Plexina A2

Dosis del anticuerpo (ng/ml)	A450 nm promedio								
	C8-H241			C8-6			C8-co16		
	DEC de c-Met	DEC de RON	Plexina A2	DEC de c-Met	DEC de RON	Plexina A2	DEC de c-Met	DEC de RON	Plexina A2
0,000	0,300	0,098	0,092	0,322	0,110	0,109	0,335	0,106	0,104
0,002	0,317	0,088	0,082	0,326	0,106	0,099	0,369	0,100	0,094
0,010	0,317	0,081	0,090	0,335	0,097	0,095	0,374	0,096	0,078
0,060	0,484	0,104	0,099	0,551	0,087	0,096	0,446	0,089	0,082
0,357	0,902	0,091	0,097	0,813	0,080	0,107	0,907	0,083	0,095
2,143	2,861	0,101	0,103	2,415	0,098	0,106	2,888	0,114	0,092
12,860	4,000	0,079	0,083	4,000	0,087	0,085	4,000	0,102	0,069
77,160	4,000	0,085	0,079	4,000	0,090	0,078	4,000	0,084	0,096
462,963	4,000	0,090	0,104	4,000	0,088	0,086	4,000	0,103	0,092
2777,778	4,000	0,085	0,092	4,000	0,088	0,094	4,000	0,095	0,114
16666,667	4,000	0,117	0,125	4,000	0,124	0,118	4,000	0,198	0,284
100000,000	4,000	0,267	0,310	4,000	0,170	0,171	4,000	0,421	0,983

ES 2 663 825 T3

(continuación)

Error típico									
0,000	0,006	0,015	0,007	0,011	0,000	0,004	0,003	0,005	0,011
0,002	0,003	0,006	0,002	0,012	0,005	0,006	0,023	0,000	0,006
0,010	0,002	0,000	0,005	0,001	0,004	0,009	0,015	0,012	0,002
0,060	0,055	0,001	0,002	0,144	0,004	0,005	0,029	0,003	0,002
0,357	0,004	0,004	0,002	0,022	0,005	0,003	0,005	0,007	0,000
2,143	0,032	0,004	0,005	0,041	0,004	0,003	0,128	0,002	0,007
12,860	0,000	0,001	0,012	0,000	0,000	0,007	0,000	0,004	0,004
77,160	0,000	0,002	0,014	0,000	0,008	0,007	0,000	0,003	0,001
462,963	0,000	0,004	0,003	0,000	0,006	0,001	0,000	0,013	0,001
2777,778	0,000	0,004	0,002	0,000	0,004	0,001	0,000	0,007	0,000
16666,667	0,000	0,005	0,004	0,000	0,004	0,003	0,000	0,003	0,002
100000,000	0,000	0,008	0,012	0,000	0,002	0,003	0,000	0,011	0,093

D11-8B8			D11-C27G3			D11-S17Y		
DEC de c-Met	DEC de RON	Plexina A2	DEC de c-Met	DEC de RON	Plexina A2	DEC de c-Met	DEC de RON	Plexina A2
0,297	0,097	0,081	0,2844	0,0791	0,0771	0,31475	0,1129	0,10795
0,299	0,082	0,078	0,2708	0,07065	0,07965	0,3091	0,09705	0,09345
0,304	0,074	0,078	0,2904	0,0715	0,0763	0,31405	0,0868	0,0986
0,445	0,094	0,073	0,45965	0,0695	0,06605	0,37355	0,0857	0,09455
1,314	0,073	0,074	1,43965	0,07085	0,0792	0,78915	0,08475	0,0924
2,416	0,069	0,073	2,5266	0,0655	0,0742	2,1432	0,1085	0,08235
3,931	0,079	0,075	4	0,07835	0,0641	4	0,0825	0,0768
4,000	0,079	0,066	4	0,06725	0,076	4	0,08195	0,07575
4,000	0,071	0,077	4	0,0981	0,1045	4	0,08185	0,0783
4,000	0,088	0,093	4	0,20445	0,30325	4	0,09255	0,0955
4,000	0,165	0,181	4	0,67565	1,33475	4	0,1274	0,1491
4,000	0,544	0,498	3,9211	2,30295	3,37085	4	0,23775	0,3146
Error típico								
0,006	0,003	0,003	0,0087	0,0017	0,0106	0,00515	0,0012	0,00035
0,011	0,002	0,002	0,0194	0,00595	0,00185	0,0228	0,00065	0,01725
0,012	0,002	0,001	0,0051	0,0018	0,0017	0,01195	0,0058	0,0079
0,007	0,017	0,003	0,01495	0,0006	0,00335	0,00375	0,0013	0,00035
0,092	0,007	0,004	0,02935	0,00695	0,0017	0,04195	0,00075	0,0039
0,044	0,002	0,001	0,2742	0,0002	0,0015	0,0841	0,0054	0,00015
0,069	0,005	0,002	0	0,01505	0,0043	0	0,0029	0,0061
0,000	0,007	0,000	0	0,00275	0,0066	0	0,00445	0,00455
0,000	0,005	0,004	0	0,0063	0,0032	0	0,00485	0,0089
0,000	0,003	0,005	0	0,00975	0,00535	0	0,00705	0,0055
0,000	0,007	0,004	0	0,03125	0,03495	0	0,0007	0,0035
0,000	0,016	0,006	0,0789	0,07335	0,14345	0	0,00865	0,004

Ejemplo 5**Los anticuerpos contra c-Met bloquean la unión HGF/c-Met**

Los ensayos de unión *in vitro* se utilizan para determinar la inhibición de la unión de HGF a c-Met por los presentes anticuerpos contra c-Met.

- 5 Los pocillos de placas de alta unión de 96 pocillos de EIA/RIA (Costar, n.º 2592) se recubren con 100 µl de DEC de c-Met humano-Fc-Flis (SEQ ID NO: 72) (2 µg/ml) en solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco 's (DPBS) durante la noche a temperatura ambiente; se lavan cuatro veces con tampón de lavado (solución salina tamponada con Tris, pH 8,0, con polisorbato 20 (TWEEN®-20) al 0,05 % (v/v) (TBS-T) (BioFX Labs, n.º WSHW-1000-01) en un lavador de placas; se bloquean mediante la adición de 300 µl de tampón de bloqueo (TBS-T más seroalbúmina bovina (BSA) al 1 % (p/v) (Jackson Immuno, n.º 001-000-162) y se incuban durante 60 minutos a 37 °C. A
- 10 continuación se elimina el tampón de bloqueo de los pocillos y se añaden a cada pocillo 50 µl de anticuerpos en tampón de bloqueo a concentraciones finales tal como se indican en la Tabla 7, respectivamente. Se añade tampón de bloqueo a los pocillos de control con solo HGF. Las placas con anticuerpos contra c-Met se incuban durante 90 minutos a 37 °C. Después, se añaden a cada pocillo 50 µl de factor de crecimiento de hepatocitos humanos (HGF) (R& D Systems, n.º 294) en tampón de bloqueo a una concentración final de 10 ng/ml, excepto en los pocillos de control con solo anticuerpo. Las placas que contienen la mezcla anticuerpo contra c-Met/ HGF se incuban en un agitador de placas durante dos horas a temperatura ambiente. Después, los pocillos se lavan cuatro veces con TBS-T en un lavador de placas. A continuación, se añaden a cada pocillo 100 µl de anticuerpo contra HGF
- 15 biotinilado (R&D Systems, n.º BAF294) en tampón de bloqueo a una concentración final de 100 ng/ml. Las placas se incuban durante 90 minutos a temperatura ambiente. Los pocillos se lavan de nuevo cuatro veces con TBS-T en un lavador de placas. A cada pocillo se añaden 100 µl de una dilución a 1:200 de estreptavidina-peroxidasa de rábano picante (HRP) (R&D Systems, DY998) en tampón de bloqueo. Las placas se incuban durante 30 minutos a temperatura ambiente. Los pocillos se lavan cuatro veces con TBS-T en un lavador de placas. A continuación se añaden 100 µl/pocillo de la solución de sustrato (BioF_x, n.º TMBW-1000-01) y las placas se incuban durante 10
- 20 minutos a temperatura ambiente. Para detener la reacción se añaden 100 µl/pocillo de solución de detención (BioF_x, n.º LSTP-1000-01). Las muestras se leen a una longitud de onda de 450-570 nm en un lector de microplacas (Spectra, MAX 190) y no se resta fondo.
- 25

Como se muestra en la Tabla 7, ambos anticuerpos contra c-Met C8 y D11 de la presente invención bloquean la unión HGF humano/ c-Met.

30

Tabla 7
Inhibición de la unión de HGF humano a c-Met humano mediante los anticuerpos C8- y D11-
A450 nm PROM.

Dosis del anticuerpo (ng/ml)	hlgG2	D11-8B8	D11-27G3	D11-S17Y	hlgG4	C8-6	C8-H241	C8-co16
0,00	2,43	2,43	2,43	2,43	2,61	2,61	2,61	2,61
0,48	2,46	2,51	2,37	2,15	2,41	2,56	2,45	2,05
1,91	2,87	2,48	2,31	1,98	2,49	2,59	2,46	2,18
7,63	2,70	2,41	2,27	2,08	2,88	2,64	2,53	2,20
30,52	2,41	2,32	2,38	2,07	2,63	2,42	2,42	2,08
122,07	2,52	1,92	1,60	1,69	2,44	2,00	1,77	1,30
488,28	2,53	1,30	0,94	1,29	2,44	1,33	0,73	0,70
1953,13	2,43	1,43	0,97	1,23	2,27	1,08	0,68	0,60
7812,50	2,50	1,24	0,91	1,12	2,49	0,95	0,70	0,57
31250,00	2,50	1,31	0,94	1,17	2,67	0,98	0,77	0,56
125000,00	2,43	1,38	0,89	1,35	3,00	1,32	0,69	0,38
	Error típ.							
0,00	0,06	0,06	0,06	0,06	0,10	0,10	0,10	0,10
0,48	0,02	0,13	0,01	0,09	0,24	0,02	0,14	0,15
1,91	0,27	0,08	0,08	0,03	0,00	0,03	0,16	0,12
7,63	0,14	0,01	0,21	0,08	0,14	0,03	0,06	0,09
30,52	0,09	0,02	0,31	0,09	0,16	0,01	0,03	0,01
122,07	0,09	0,07	0,03	0,02	0,08	0,10	0,02	0,03
488,28	0,00	0,04	0,04	0,02	0,01	0,02	0,00	0,01
1953,13	0,13	0,16	0,02	0,05	0,00	0,01	0,01	0,01
7812,50	0,04	0,01	0,01	0,02	0,25	0,07	0,01	0,02
31250,00	0,06	0,02	0,02	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03
125000,00	0,07	0,03	0,01	0,08	0,13	0,47	0,01	0,00

Abreviaturas: PROM= promedio; Err. típ.= error típico

Ejemplo 6**Los anticuerpos contra c-Met inducen una débil fosforilación de c-Met en comparación con el factor de crecimiento de hepatocitos y el Acm agonista 5D5**

5 Tras la estimulación con HGF, la línea celular de carcinoma de pulmón A549 presenta un aumento de la fosforilación de c-Met en el resto de tirosina 1349. Para medir la actividad agonista de diversos anticuerpos contra c-Met en ausencia de HG, así como del Acm 5D5 y el propio HGF, se utiliza un ensayo de ELISA de c-Met fosforilado (p-Met).

10 Se cultivan células A549 (ATCC, n.º CCL-185) en medio de Ham F12K + glutamina 2 mM (Invitrogen, n.º 21127-022) + SFB al 10 % (Invitrogen, n.º 10082). Las células se siembran en placa a 6×10^4 células/pocillo en el medio completo con suero como anteriormente, en placas de 96 pocillos, y se incuban durante la noche a 37 °C en CO₂ al 5 % (v/v). Se retira el medio de los pocillos y las células se privan de nutrientes en 100 µl de medio de Ham F12K + glutamina 2 mM + SFB al 0,5 % durante seis horas a 37 °C en CO₂ al 5 % (v/v). Los anticuerpos o el HGF se diluyen en el medio de cultivo sin nutrientes, añadido a las concentraciones finales tal como se indica en la Tabla 8, y se incuban durante 15 minutos a 37 °C. El medio se aspira y las células se lisan en 50 µl de tampón de lisis (Tris 10 mM (Invitrogen, n.º 15567-027), NaCl 150 mM, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 2 mM (Invitrogen, n.º 15575-038), NaF 50 mM (Sigma, n.º S1504), octilfenoxipolietoxi etanol (TRITON®-X 100; Sigma, n.º T8787) al 1 % (v/v), ortovanadato de sodio 2 mM (EMD Chemicals, Gibbstown, NJ, n.º 567540), inhibidor de proteasas (Sigma, St. Louis, MO; n.º P8340), cóctel de inhibidores de fosfatasa I (Sigma n.º P2850) y cóctel de inhibidores de fosfatasa II (Sigma n.º P5726)) por pocillo, y se incuba en hielo durante 15-20 minutos. Los lisados celulares se utilizan en el ensayo ELISA descrito a continuación para determinar la fosforilación de c-Met en el resto Y1349.

20 El anticuerpo de captura de c-Met se diluye en tampón de recubrimiento Bup H (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, n.º 28382) hasta 2 µg/ml, se añade a las placas de ELISA (Greiner Bio-One, Monroe, NC, n.º 655081) y se incuban durante la noche a 4 °C. Los pocillos se aspiran, se lavan tres veces con TBS-T (BioFX, Owings Mills, MD, WSH-1000/01) y luego se bloquean con 200 µl de tampón de bloqueo (TBS-T más BSA al 2 % (p/v)) durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavan tres veces con TBS-T. A continuación, se añaden 25 µl de lisados celulares más 75 µl de tampón de bloqueo, y las placas se incuban durante la noche a 4 °C. A continuación, las placas se lavan tres veces con TBS-T. Se añaden a cada pocillo 100 µl de anticuerpo policlonal contra c-Met pY1349 0,5 mg/ml (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, n.º 3133) en tampón de bloqueo y se incuban durante 2 horas a temperatura ambiente. A continuación, las placas se lavan tres veces con TBS-T. A cada pocillo se añaden 100 µl de anticuerpo policlonal de cabra contra IgG de conejo conjugado con peroxidasa (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, n.º 111-035-144) diluido a 1/10.000 en tampón de bloqueo y se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente. A continuación, se lavan tres veces las placas con TBS-T. Se añaden 100 µl de solución de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (BioFX, n.º TMBW-1000/01) a cada pocillo, seguido de la adición de 100 µl de solución de detención (BioFX, n.º LSTP-1000/01). Las placas se leen a 450 nm utilizando un lector de placas SpectraMax M5 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) y los valores de la muestra se determinan utilizando el programa informático SOFTmax 4.8 (Molecular Devices).

Los resultados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8**Efecto de los anticuerpos contra c-Met, HGF y el Acm agonista 5D5 sobre la fosforilación de c-Met en células A549**

Conc. de Ac (µg/ml)	Señal de p-Met C8-H241	Señal de p-Met C8-6	Señal de p-Met hlgG4
30	0,333	0,272	0,061
10	0,418	0,334	0,077
3,333	0,450	0,328	0,068
1,113	0,465	0,365	0,087
0,370	0,340	0,211	0,082
0,123	0,304	0,127	0,067
0,041	0,130	0,125	0,268
0,014	0,078	0,105	0,074
0,005	0,074	0,070	0,074
0,002	0,070	0,081	0,117

(continuación)

Conc. de HGF (ng/ml)	Señal de p-Met	Conc. de Ac (ng /ml)	Señal de p-Met Acm 5D5
300	10,615	5	3,290
100	6,129		
33,33333	2,267		
11,11111	1,0667		
3,703704	0,461		
1,234568	0,211		
0,411523	0,142		
0,137174	0,128		
0,045725	0,100		
0,015242	0,148		

5 Los datos demuestran que el HGF y el Acm 5D5 agonista de c-Met estimulan fuertemente la fosforilación de c-Met, mientras que los Acm de c-Met actuales, C8-H241 y C8-6, estimulan débilmente la fosforilación de c-Met. Se obtienen resultados similares en las líneas celulares HCT116, H460, y MDA-MB-231.

El Acm D11-8B8 produce resultados similares.

Ejemplo 7

Los anticuerpos contra c-Met inhiben la fosforilación de c-Met inducida por HGF

10 La unión de HGF a C-Met tiene como resultado la fosforilación en tirosina de moléculas de c-Met y la activación de la vía de señalización de c-Met. En este ejemplo, la línea celular de cáncer de colon humano HCT116, que es sensible a HGF, se utiliza para evaluar la inhibición de la fosforilación inducida por HGF en los restos de tirosina 1230, 1234 y 1235 de c-Met por los presentes anticuerpos contra c-Met.

15 Células HCT116 (ATCC, Manassas, VA, n.º CCL-247) se resuspenden hasta 150.000 células/ml en medio de McCoy 5A (Invitrogen, Carlsbad, CA, n.º 16600-082) más penicilina/estreptomicina (Invitrogen, n.º 15140-122) con 10 % (v/v) de suero bovino fetal (FBS) (Invitrogen, n.º 10082-147). 0,2 ml de las células HCT116 resuspendidas se añaden a placas de microtitulación de 96 pocillos (Corning, Lowell, MA, n.º 3596) a 30.000 células/pocillo, y las células se incuban a continuación durante 48 horas a 37 °C en 5 % (v/v) de CO₂. Después, se aspira el medio de cultivo y no se alimenta a las células en 100 µl de medio de McCoy 5A además de penicilina/estreptomicina con 0,1% (p/v) de BSA durante 24 horas a 37 °C en 5 % (v/v) de CO₂. Se añaden 25 µl de azida sódica (concentración final de 0,01 % (p/v)) (Sigma, n.º S2002), seguido inmediatamente de la adición de 25 µl de diluciones x8 de anticuerpos contra c-Met a medio de McCoy 5A, más penicilina/estreptomicina con 0,1 % (p/v) de BSA, y las células se incuban durante 30 minutos a 37 °C en 5 % (v/v) de CO₂. A cada pocillo se añaden 50 µl de HGF a una concentración final de 200 ng/ml y las células se incuban durante 15 minutos adicionales a 37 °C en 5 % (v/v) de CO₂. Después se aspira el medio y se añaden 50 µl de tampón de lisis celular (Tris 10 mM (Invitrogen, n.º 15567-027), NaCl 150 mM, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 2 mM (Invitrogen, n.º 15575-038), NaF 50 mM (Sigma, n.º S1504), 1 % (v/v) de octilfenoxi polietoxi etanol (TRITON[®]-X 100; Sigma, n.º T8787), ortovanadato de sodio 2 mM (EMD Chemicals, Gibbstown, NJ, n.º 567540), e inhibidor completo de la proteasa, EDTA libre (Roche, Basel, Switzerland, n.º 11836170001). Las células se incuban en el tampón de lisis a temperatura ambiente durante 15-30 minutos. Los lisados celulares se analizan para detectar la fosforilación en tirosina de c-Met mediante ELISA del siguiente modo.

25 El anticuerpo de captura de c-Met se diluye en tampón de recubrimiento (BioFX, Glendora, CA, CAPA-1000/01) a 2 µg/ml. Se añaden 110 µl del anticuerpo diluido por pocillo a placas de ELISA (Greiner Bio-One, Monroe, NC, n.º 655081), y las placas se incuban durante la noche a 4 °C. Los pocillos se aspiran, se lavan dos veces con TBS-T, y después se bloquean con 200 µl de tampón de bloqueo (TBS-T más 2 % (p/v) de BSA) durante 1 hora. Las placas se lavan dos veces con TBS-T. A continuación, se añaden 25 µl de lisados celulares más 75 µl de tampón de bloqueo o 100 µl de diluciones de lisados de células MKN45 (diluidas con tampón de bloqueo, como patrón), y las placas se incuban durante 2 horas a temperatura ambiente. Las placas se lavan a continuación cuatro veces con TBS-T. Después, a cada pocillo se añaden 100 µl de 0,5 µg/ml de anticuerpo policlonal pYpYpY1230/1234/1235 c-Met (Invitrogen, n.º 44-888G) en tampón de bloqueo y las placas se incuban durante 2 horas a temperatura ambiente. A continuación, las placas se lavan cuatro veces con TBS-T. Después se añaden 100 µl de anticuerpo policlonal de cabra anti IgG de conejo conjugado con peroxidasa (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, n.º 111-035-144) en tampón de bloqueo y la mezcla se incuba durante 1 hora a temperatura ambiente. Después, las placas se lavan seis veces con TBS-T. Se añaden 100 µl de solución de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (BioFX, n.º TMBW-1000/01) a cada pocillo, seguido por la adición de 100 µl de solución de detención (BioFX, n.º

LSTP-1000/01). Las placas se leen a 450 nm con una corrección 570 nm utilizando un lector de placas SpectraMax 190 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). La curva estándar se establece utilizando análisis de 4 parámetros y los valores de la muestra se determinan utilizando el software 3. 1. 2 Pro SOFTmax (Molecular Devices).

5 El porcentaje de inhibición de fosforilación de la tirosina de c-Met se establece al promedio de tratamiento con HGF sin adición de anticuerpos contra c-Met (inhibición del 0 %), y la inhibición del 100 % se establece al promedio de tratamiento con azida sódica (sin tratamiento con HGF o con anticuerpos contra c-Met).

10 La Tabla 9 muestra el promedio de los tratamientos por triplicado por experimento para tres experimentos con errores estándar. Los datos demuestran que cinco de seis anticuerpos contra c-Met de la presente invención inhiben significativamente la fosforilación de la tirosina de c-Met inducida por HGF en comparación con la de los controles de isotipo IgG2 e IgG4 humanos.

Tabla 9

Porcentaje de inhibición de la fosforilación en tirosina de c-Met inducida por HGF por los anticuerpos C8 y D11																		
Tratamiento con el isotipo anticuerpo	Dosis del anticuerpo: 10 µg/ml			2 µg/ml			0,4 µg/ml			0,08 µg/ml			0,016 µg/ml			0,0032 µg/ml		
	promedio	Err. est.		promedio	Err. est.		promedio	Err. est.		promedio	Err. est.		promedio	Err. est.		promedio	Err. est.	
D11-8B8	19,56	4,68	IgG2	40,74	8,24	35,04	6,43	10,52	7,41	-6,68	9,48	-10,37	6,79					
D11-C27G3	1,25	7,55	IgG2	31,78	7,71	38,10	4,97	20,79	5,72	5,73	8,95	9,72	7,09					
D11-S17Y	16,73	8,72	IgG2	31,39	6,43	15,91	6,05	-3,24	10,54	2,53	8,52	9,48	8,51					
C8-H241	60,08	5,27	IgG4	62,20	2,10	59,09	3,05	22,09	4,92	14,68	12,40	-12,33	10,18					
C8-co-16	65,40	3,94	IgG4	58,96	3,37	45,08	3,44	9,77	9,14	-2,89	10,95	-10,72	5,41					
C8-6	14,88	10,78	IgG4	27,94	3,80	16,83	4,36	7,79	7,68	-6,06	8,84	-11,34	8,65					
5D5	64,12	3,31	mIgG1	63,75	4,44	42,55	4,27	11,87	7,73	-3,50	9,70	-6,07	5,68					
hlgG2	6,24	5,31	Control del isotipo	17,53	5,74	9,31	6,56	-1,58	8,16	9,49	6,77	-10,21	6,78					
hlgG4	-1,47	5,76	Control del isotipo	-6,62	9,07	-16,07	7,01	-21,70	9,09	-7,96	10,97	-14,40	7,37					
mIgG1	5,46	6,31	Control del isotipo	9,76	9,27	13,43	8,18	-10,59	10,31	-5,42	10,53	-9,76	8,42					
%																		
Sin tratar																		
HGF 200 ng/ml																		
% de inhibición de fosfo-Met estimulado por HGF medido mediante ELISA																		
Prom. Err. est.																		
100,00 0,98																		
0,001 2,76																		

Ejemplo 8**Inducción de internalización de c-Met por los anticuerpos contra c-Met**

Los experimentos descritos en este ejemplo emplean análisis de clasificación celular activada por fluorescencia (FACS) para demostrar que los presentes anticuerpos contra c-Met se unen a las moléculas de c-Met de la superficie celular e inducen internalización de c-Met. Las células MKN45 empleadas constitutivamente expresan niveles altos de c-Met total y exhiben fosforilación de c-Met independiente de HGF como resultado de la amplificación del gen *MET*. La internalización de c-Met parece inducir la degradación de c-Met (véanse los Ejemplos 10 y 19), lo que tiene como resultado la inhibición de la vía de señalización de c-Met.

Pocillos de placas de cultivo tisular de 6 pocillos (Costar, n.º 3598) se siembran con $1,5 \times 10^5$ células humanas de tumor gástrico MKN45 (Japan Health Sciences Foundation, Health Science Research Resource Bank, n.º JCRB0254) en 2 ml de medio de cultivo (RPMI-1640 (Invitrogen, n.º 11835), FBS al 10 % (v/v) (Invitrogen, n.º 10082); L-glutamina 2 mM (Invitrogen, n.º 25030); 100 U/500 ml de penicilina G, y 100 µg/500 ml de estreptomina (Invitrogen, n.º 15140)). Las placas se incuban durante 24 horas a 37 °C con 95 % de humedad relativa y 5 % (v/v) de CO₂. Después, los anticuerpos se añaden a los pocillos a una concentración final de 5 µg/ml. Después del tratamiento durante la noche, se retira el medio de cultivo de los pocillos y se reemplaza con 1 ml de solución de disociación celular sin enzimas (Chemicon, n.º S-014-B). Las células se recogen en tubos de centrifuga después de haber sido incubadas durante 5 minutos a temperatura ambiente, y se lavan una vez en medio de cultivo seguido de un lavado más en tampón de unión (DPBS con 1 % (p/v) de BSA y 0,01 % (p/v) de azida sódica). Antes de la tinción de las células, un anticuerpo contra c-Met, que reconoce un epítipo diferente de los presentes anticuerpos contra c-Met, se marca usando un kit de marcaje Alexa Fluor 488 Monoclonal Antibody (Molecular Probes, Eugene, OR, n.º A-20181) de acuerdo con las instrucciones del proveedor. A las células se añaden 100 µl de tampón de unión que contiene 2 µg/ml del anticuerpo marcado con Alexa Fluor 488, y después se incuban durante 60 minutos en hielo. Después, las células se lavan una vez con tampón de unión y se resuspenden en DPBS que contenía 2 µg/ml de yoduro de propidio (para teñir las células muertas). La cantidad de moléculas de c-Met restantes en la superficie celular se analiza mediante análisis FACS, y se adquieren 10.000 acontecimientos para cada muestra.

La intensidad media de la fluorescencia sobre la superficie celular refleja la cantidad de moléculas de c-Met que permanecen en la superficie de las células después del tratamiento con los anticuerpos contra c-Met.

En la Tabla 10 se muestran los datos de un experimento representativo.

Tabla 10**Efecto de los anticuerpos C8- y D11- sobre la internalización de c-Met determinado por análisis de FACS**

Fluorescencia media										
Anticuerpo (ug/ml)	hlgG2	D11-8B8	D11-C27G3	D11-S17Y	hlgG4	C8-6	C8-H241	C8-co16	mlgG	5D5
5,00	130,25	44,66	51,09	56,35	135,03	67,88	57,63	56,16	136,47	92,87

Los datos demuestran que la intensidad media de fluorescencia sobre la superficie de las células tratadas con los presentes anticuerpos contra c-Met, es menor que en las células tratadas con un correspondiente anticuerpo control de isotipo IgG o anticuerpo mlgG, lo que indica que los presentes anticuerpos contra c-Met inducen internalización de c-Met. Además, la intensidad media de fluorescencia sobre la superficie de las células tratadas con los presentes anticuerpos contra c-Met es más baja que en células tratadas con el anticuerpo control agonista de c-Met 5D5. El % de internalización puede calcularse del siguiente modo

$$\% \text{ de internalización} = [1 - (\text{fluorescencia media del anticuerpo de ensayo dividida entre la fluorescencia media de anticuerpo control de isotipo}) \text{ multiplicado por } 100].$$

Los datos de internalización sugieren que los presentes anticuerpos inducen dimerización de c-Met humano. Los datos de los Ejemplos 9 y 19 demuestran que los anticuerpos C8 y D11 también inducen degradación, y reducen la fosforilación de c-Met.

Los resultados de internalización complementarios se obtienen mediante microscopia confocal utilizando el anticuerpo C8 murino marcado con fluorescencia en células MKN45 y Caki-1.

Utilizando los anticuerpos C8-H241, C8-6, C8-co-16 y D11 murino, se obtienen resultados de internalización similares en las células NIH3T3 de mono cinomolgo transfectadas con ácido nucleico que codifica el c-Met de mono cinomolgo.

Los anticuerpos C8-H241, C8-6, C8-co-16 y optD11 también inducen la internalización de c-Met en células NIH3T3 transfectadas con ácido nucleico que codifica la mutación M1149T en el dominio quinasa de c-Met humano. Los

anticuerpos C8-H241, C8-6, C8-co-16 y D11 murino también inducen internalización de c-Met en células de cáncer de pulmón no microcítico H1437 que contienen la mutación R988C en el dominio yuxtamembrana de c-Met. Ambas mutaciones causan ganancia de activación constitutiva de la función de c-Met.

Ejemplo 9

5 **Inhibición por anticuerpos de la proliferación de células tumorales independiente de ligando *in vitro***

En este ensayo se analiza la inhibición del crecimiento de las células tumorales *in vitro* por los anticuerpos contra c-Met en células MKN45 independiente de HGF en ausencia del ligando de HGF.

10 Los anticuerpos contra c-Met y de control del isotipo se diluyen con medio de cultivo (RPMI-1640 (Invitrogen, n.º 11835), FBS al 10 % (v/v), L-glutamina 2 mM (Invitrogen, n.º 25030), 100 U/500 ml de penicilina G y 100 µg/500 ml de estreptomina (Invitrogen, n.º 15140), para obtener 2X las concentraciones finales indicadas en la Tabla 11, y se añaden 50 µl de las soluciones de anticuerpos 2X a cada pocillo de placas de cultivo tisular de 96 pocillos (PerkinElmer n.º 1. 450 -517). Las células MKN45 (Japan Health Sciences Foundation, Health Science Research Resource Bank, n.º JCRB0254) se mantienen en el medio indicado anteriormente, y se vuelven a suspender a 1 x 10⁵ células/ml en el mismo medio. A cada pocillo se añaden 50 µl de esta resuspensión de MKN45 para obtener 5 x 15 10³ células/pocillo. Las placas se incuban durante 48 horas a 37 °C con 95 % de humedad relativa y 5 % (v/v) de CO₂. Durante las últimas seis horas del cultivo, las células se pulsan con ³H-timidina (MP Biomedicals, Solon, OH n.º 24066) a 1 µci/pocillo a 37 °C, humedad relativa del 95 %, 5 % (v/v) de CO₂. Después se retira el medio y las células se lavan una vez con DPBS. Después de esto, a cada pocillo se añaden 200 µl de Optiphase Supermix (PerkinElmer, n.º 1200-439). Las placas se sellan y se incuban durante al menos una hora a temperatura ambiente. 20 La ³H-timidina incorporada en las células se cuenta durante un minuto utilizando un contador de centelleo.

En la Tabla 11 se muestran los datos de un experimento representativo.

Tabla 11

Inhibición de la incorporación de ³H-timidina en células MKN45 mediante varios anticuerpos C8 y D11

CPM PROM.

Dosis del anticuerpo (mg/ml)	hlgG2	D11-8B8	D11-27G3	D11-S17Y	hlgG4	C8-co16	C8-H241	C8-6	mIgG	5D5
20000,0	45054	11239	18407	19752	50628	11738	11425	16387	52448	35086
3333,3	49384	11441	16920	21239	54026	12956	12063	18216	53670	38195
555,6	51720	11925	15987	20936	54204	13476	13217	18334	54655	39496
92,6	47562	11094	14550	21911	54264	12419	11962	23041	52241	39607
15,4	50488	24402	28685	39695	53806	22528	23150	44771	51329	49766
2,6	48491	44741	47034	49868	54765	53465	48761	54598	55463	54967
0,4	46468	43334	43998	45304	55330	47485	46645	53389	51549	49563
0,1	44822	41578	41515	44566	53856	45725	44418	51668	47709	51883
0,0	50427	50427	44213	44213	48708	51478	51478	48708	50300	50300
Err. est.										
20000,0	2927	114	1265	1206	2491	262	654	282	1845	764
3333,3	2462	732	641	669	1421	388	386	314	1310	1491
555,6	2166	605	578	267	4364	281	341	1116	1192	534
92,6	1835	22	150	564	1733	352	636	475	1036	370
15,4	2144	2024	941	463	1376	207	1771	422	1281	968
2,6	2587	1914	1133	1910	1978	2164	1945	444	919	2577
0,4	2041	650	1177	2551	1501	378	2392	162	438	1943
0,1	1628	1734	1817	2402	678	1340	2442	1589	2092	3143
0,0	1203	1203	841	841	1377	886	886	1377	777	777

Abreviaturas: PROM. = promedio; CPM = cuentas por minuto; Err. est. = error estándar

Estos datos demuestran que diversos anticuerpos contra c-Met C8 y D11, de la presente invención inhiben la proliferación de células MKN45 independiente de HGF como se pone de manifiesto mediante una reducción en la incorporación de ³H-timidina. Se obtienen resultados similares en las células tumorales SNU5 y NUGC-4, cada una de las cuales exhibe sobreexpresión constitutiva y fosforilación de c-Met.

5 Ejemplo 10

Reducción de c-Met fosforilado y total y falta de desprendimiento del dominio extracelular de c-Met, en respuesta a anticuerpos contra c-Met

En este ejemplo se investiga si el tratamiento de las células MKN45 con anticuerpos contra c-Met de la presente invención tiene como resultado la reducción de c-Met fosforilado (p-Met) y de c-Met total. Además, este ensayo se usa para determinar si el tratamiento con los anticuerpos c-Met induce el desprendimiento del DEC de c-Met en un medio acondicionado para MKN45.

Los anticuerpos contra c-Met y de control del isotipo se diluyen con medio de cultivo (RPMI-1640 (Invitrogen, n.º 11835), FBS al 10 % (v/v) (Invitrogen, n.º 10082), L-glutamina 2 mM (Invitrogen, n.º 25030), 100 U/500 ml de penicilina G y 100 µg/500 ml de estreptomycin (Invitrogen, n.º 15140)) para obtener 2X las concentraciones finales indicadas en la Tabla 12, y se añaden 50 µl de las soluciones de anticuerpos 2X a cada pocillo de placas de cultivo tisular de 96 pocillos (Costar, n.º 3596). Las células MKN45 (Japan Health Sciences Foundation, Health Science Research Resource Bank, n.º JCRB0254) se mantienen en el medio indicado anteriormente, y se vuelven a suspender a 1×10^5 células/ml en el mismo medio. A cada pocillo se añaden 50 µl de esta resuspensión de MKN45 para obtener 5×10^3 células/pocillo. Las placas se incuban a continuación durante 24 horas a 37 °C con 95 % de humedad relativa y 5 % (v/v) de CO₂, y los lisados celulares se preparan como se describe en el Ejemplo 7. Además, se recoge el medio acondicionado de cada tratamiento para la cuantificación del DEC de c-Met. Los niveles de c-Met total y de p-Met en los lisados celulares de determinan mediante ELISA, y se normalizan a la concentración de proteína del lisado (determinada por BCA, Pierce n.º 23225).

c-Met fosforilado

25 La fosforilación de c-Met en los restos de tirosina 1230, 1234 y 1235 se determina como se describe en el Ejemplo 7.

Desprendimiento de c-Met total y del DEC de c-Met

Para los ELISA de c-Met total y del DEC de c-Met, un anticuerpo de captura de c-Met se diluye en tampón de recubrimiento (BioFX, Glendora, CA, CAPA-1000/01) hasta 2 µg/ml. Se añaden 110 µl del anticuerpo diluido por pocillo a placas de ELISA Greiner Bio-One, Monroe, NC, n.º 655081), y las placas se incuban durante la noche a 4 °C. Los pocillos se aspiran, se lavan dos veces con TBS-T, y después se bloquean con 200 µl de tampón de bloqueo (TBS-T más 2 % (p/v) de BSA) durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavan dos veces con TBS-T. A continuación se añaden lisados de células MKN45, medio condicionado para MKN45 o dominio extracelular (DEC) de c-Met (SEQ ID NO: 75) (como patrón) y las placas se incuban durante 2 horas a temperatura ambiente. Las placas se lavan a continuación cuatro veces con TBS-T. Después, a cada pocillo se añaden 100 µl de 0,5 µg/ml de anticuerpo secundario contra c-Met biotinilado (Acm 5D5) que se une a un epítipo de c-Met diferente del anticuerpo de captura diluido en tampón de bloqueo y después se añaden a cada pocillo y las placas se incuban durante 2 horas a temperatura ambiente. A continuación, las placas se lavan cuatro veces con TBS-T. Después se añaden 100 µl de estreptavidina conjugada con peroxidasa (diluida a 1/12.000 (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PAPA, n.º 016-030-084) en tampón de bloqueo y la mezcla se incuba durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavan a continuación seis veces con TBS-T. A cada pocillo se añaden 100 µl de solución de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (BioFX, n.º TMBW-1000/01), seguido por la adición de 100 µl de solución de detención (BioFX, n.º LSTP-1000/01). Las placas se leen a 450 nm con una corrección 570 nm utilizando un lector de placas SpectraMax 190 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). La curva estándar se establece utilizando análisis de 4 parámetros y los valores de la muestra se determinan utilizando el software 3. 1. 2 Pro SOFTmax (Molecular Devices).

Como se muestra en la Tabla 12, los datos de ELISA de p-Met y c-Met total revelan que el tratamiento con el Acm C8-H241 reduce al máximo el p-Met en un 77 % y el c-Met total en aproximadamente un 67 %. El tratamiento con D11-8B8 reduce al máximo el p-Met en aproximadamente un 75 % y el c-Met total en un 63 %.

50 Como se ha indicado en el Ejemplo 8, estos datos demuestran que los anticuerpos C8 y D11 inducen la degradación de c-Met y reducen la fosforilación de c-Met.

Los datos de la Tabla 12 también indican que el tratamiento con los anticuerpos contra c-Met C8-H241 y D11-8B8 no inducen escisión y desprendimiento del DEC de c-Met.

Tabla 12

Efecto de los anticuerpos C8 y D11 en c-Met fosforilado, c-Met total, y desprendimiento del dominio extracelular de c-Met en lisados de células MKN45 y medio acondicionado								
Porcentaje de inhibición de c-Met fosforilado en MKN45								
	C8-H241		hIgG4		D11-8B8		hIgG2	
Dosis de Amc (ng/ml)	Prom.	desv. est.	Prom.	Desv. est.	Prom.	Desv. est.	Prom.	Desv. est.
10000	77,0	2,4	-2,1	10,9	74,8	3,4	14,0	7,1
1000	74,1	1,3	11,1	9,7	72,8	2,0	-4,6	10,9
100	71,7	2,5	13,4	13,3	69,1	3,7	-7,6	24,4
10	42,3	3,0	5,8	11,3	37,6	5,5	6,1	11,0
	Prom.	Desv. est.						
Sin tratar	0,0	8,0						
Porcentaje de inhibición de c-Met total en MKN45								
	C8-H241		hIgG4		D11-8B8		hIgG2	
Dosis de Amc (ng/ml)	Prom.	desv. est.	Prom.	Desv. est.	Prom.	Desv. est.	Prom.	Desv. est.
10000	63,1	1,6	-23,7	4,1	63,0	7,0	14,1	9,1
1000	66,7	4,3	10,4	16,0	62,7	0,6	-2,4	22,4
100	61,5	3,4	-3,7	14,4	62,9	2,5	7,3	9,1
10	32,3	4,9	-3,4	13,5	34,5	8,4	15,1	7,0
	Prom.	desv. est.						
Sin tratar	0,0	25,9						
Nivel de DEC de c-Met en MKN45 - Medio acondicionado (ng/ml)								
	C8-H241		hIgG4		D11-8B8		hIgG2	
Dosis de Amc (ng/ml)	Prom.	Desv. est.	Prom.	Desv. est.	Prom.	Desv. est.	Prom.	Desv. est.
10000	5,1	0,5	7,4	0,7	6,2	0,2	7,0	0,1
1000	6,1	0,8	7,6	0,4	7,2	0,5	7,2	0,5
100	5,4	0,4	7,6	0,8	6,9	1,6	7,2	0,6
10	6,6	0,2	8,4	1,1	6,2	0,4	7,2	0,1
	Prom.	desv. est.						
Sin tratar	8,3	1,0						

Ejemplo 11**Actividad agonista de los anticuerpos en células tumorales Caki-1 en ausencia de HGF**

5 Las células de carcinoma renal Caki-1 proliferan en respuesta a HGF. En este ejemplo se examina la activación de c-Met en las células Caki-1 por los anticuerpos contra c-Met en ausencia de HGF para evaluar la actividad agonista de los anticuerpos c-Met de la presente invención.

10 Pocillos de placas de cultivo tisular de 96 pocillos se siembran con 5.000 células de carcinoma de células renales humanAS Caki-1 (ATCC, n.º HTB-46) en medio de cultivo de McCoy 5A (Invitrogen, n.º 16600) complementado con FBS al 10 % (v/v), L-glutamina 2 mM (Invitrogen, n.º 25030), 100 U/500 ml de penicilina G y 100 µg/500 ml de estreptomina (Invitrogen, n.º 15140). Después de cultivar durante 24 horas, las células se privan de alimento en medio bajo en suero (FBS al 0,5 % (v/v)) durante otras 24 horas. Después, las células se cultivan en presencia de anticuerpos de control y contra c-Met en medio bajo en suero a concentraciones finales como se indica en la Tabla 13 durante 24 horas a 37 °C, humedad relativa del 95 %, 5 % (v/v) de CO₂. Durante las últimas seis horas del cultivo, las células se pulsan con ³H-timidina (MP Biomedicals, Solon, OH n.º 24066) a 1 µci/pocillo a 37 °C, humedad relativa del 95 %, 5 % (v/v) de CO₂. Después se retira el medio y las células se lavan una vez con DPBS. Después de esto, a cada pocillo se añaden 200 µl de Optiphase Supermix (PerkinElmer, n.º 1200-439). A continuación, las placas se sellan y se incuban durante al menos una hora a temperatura ambiente. La ³H-timidina incorporada en las células se cuenta durante un minuto utilizando un contador de centelleo.

15 En la Tabla 13 se muestran los datos de un experimento representativo.

Tabla 13

Efecto de los anticuerpos C8- y D11- en la incorporación de ³H-timidina en células Caki-1 en ausencia de HGF CPM PROM.

Dosis del anticuerpo (ng/ml)	hgG2	D11-8B8	D11-27G3	D11-S17Y	hgG4	C8-co16	C8-H241	C8-6	mgG	5D5
20000,0	14658	15866	16054	18616	13704	13112	12797	13194	14224	19893
3333,3	14034	15730	15765	17897	13023	13829	12702	13193	13469	19018
555,6	14048	13997	14536	16620	12393	11359	12116	13494	13200	20043
92,6	14113	13705	14718	15342	12934	11563	12142	12793	13761	15588
15,4	14473	13488	13836	14579	13271	12111	13020	13670	13638	11748
2,6	15517	14097	13325	14867	13858	13713	14407	14126	13766	12520
0,4	14341	14411	13596	14618	13412	14080	14142	14601	14357	12896
0,1	16947	15319	17690	15899	13547	15567	15530	16121	13797	14383
0,0	14992	14992	15237	15237	14622	13889	14622	13889	14531	14531
Err. típ.										
20000,0	398	737	549	345	219	642	268	96	465	807
3333,3	358	959	538	466	84	1086	380	382	927	954
555,6	343	809	705	284	478	437	216	4	397	505
92,6	428	502	728	237	447	292	445	212	706	394
15,4	232	737	729	160	487	267	305	107	514	318
2,6	386	173	295	404	339	299	291	711	91	221
0,4	357	568	508	392	317	556	656	281	331	323
0,1	262	550	1108	326	381	601	583	536	229	145
0,0	310	310	394	394	364	554	364	554	238	238

Abreviaturas: PROM = promedio; CPM = cuentas por minuto; Err. típ. = error típico

Estos datos demuestran que los anticuerpos contra c-Met, C8-H241, C8-6, C8-co-16, y D11-8B8, no aumentan significativamente la captación de timidina-[metil-³H] en las células Caki-1 en comparación con la de los controles de isotipo IgG. D11-C27G3 y D11-S17Y exhiben una estimulación baja, variable, pero estadísticamente significativa de la captación de timidina- [metil-³H] en las células Caki-1 en comparación con la del control de isotipo IgG. El anticuerpo agonista de control de c-Met 5D5 induce una captación de timidina [metil-³H] más fuerte que la de los presentes anticuerpos contra c-Met en células Caki-1 en las mismas condiciones experimentales.

Ejemplo 12

Actividad agonista de los anticuerpos en hepatocitos humanos primarios en ausencia de HGF

La actividad agonista de los presentes anticuerpos contra c-Met se evalúa adicionalmente en hepatocitos humanos primarios (PHH), que son sensibles a HGF en ausencia de HGF.

Células PHH crioconservadas, que se pueden sembrar en placas (KQG Celsis, Chicago, IL, RD n.º 00002), se descongelan a 37 °C y se resuspenden a 175.000 células/ml en medio InVitroGRO CP (Celsis, n.º Z99029) con la mezcla de antibióticos torpedo (Celsis, n.º Z99000). Se añaden 0,2 ml de células PHH resuspendidas por pocillo en placas de microtitulación de 96 pocillos revestidos con colágeno I (BD, Franklin Lakes, NJ, n.º 354407) en 35.000 células/pocillo, y las células se incuban durante 24 horas a 37 °C, 5 % (v/v) de CO₂. Después se aspira el medio de cultivo y se añaden 150 µl por pocillo de medio InVitroGRO HI (Celsis, n.º Z99009) con la mezcla de antibiótico torpedo más 0,1 % (p/v) de BSA más 50 µl de anticuerpos contra c-Met y de control en un intervalo de concentración final de 10 µg/ml a 0,0032 µg/ml o HGF a una concentración final de 200 ng/ml, en medio InVitroGRO HI con la mezcla de antibiótico torpedo más 0,1 % (p/v) de BSA. Las células se incuban durante 48 horas a 37 °C, 5 % (v/v) de CO₂ y se añaden 10 µl de 0,1 mCi de timidina- [metil-³H]/ml (MP Biomedicals, Solon, OH, n.º 24066) por pocillo durante las últimas 6 horas de incubación. Las placas de ensayo se congelan a -70 °C, se descongelan a 37 °C y se recogen en placas UniFilter-96 GF/C (Perkin Elmer, Waltham, MA, n.º 6005174) utilizando un recogedor Filtermate (Perkin Elmer). Las placas Unifilter se secan, se añaden 20 µl de líquido de centelleo Microscint 0 (Perkin Elmer, n.º 6013611) por pocillo, y las placas se cuentan en un contador de centelleo líquido 1450 Microbeta (Perkin Elmer).

La Tabla 14 muestra el promedio de los tratamientos por triplicado con desviaciones estándar, y es representativo de tres experimentos repetidos.

Tabla 14

Efecto de diversos anticuerpos C8- y D11- en la incorporación de ³ H-timidina en hepatocitos humanos primarios en ausencia de HGF													
Tratamiento con Ac	isotipo	10 µg/ml		2 µg/ml		0,4 µg/ml		0,08 µg/ml		0,016 µg/ml		0,0032 µg/ml	
		promedio	desv. tip.	promedio	desv. tip.	promedio	desv. tip.	promedio	desv. tip.	promedio	desv. tip.	promedio	desv. tip.
D11-8B8	igG2	1703,7	140,1	1427,0	120,3	1231,0	232,4	1122,3	188,3	715,3	25,8	611,0	61,5
D11-C27G3	igG2	2145,7	171,0	1874,0	443,4	1753,0	199,8	1283,3	131,6	892,0	109,3	692,7	23,0
D11-S17Y	igG2	3155,0	594,2	2566,0	173,1	1911,0	348,3	1458,7	132,7	919,7	47,5	726,3	131,7
C8-H241	igG4	671,0	61,0	710,3	81,8	681,3	13,7	669,3	77,0	630,0	37,2	625,0	65,5
Ce-co-16	igG4	952,0	36,0	822,0	88,4	670,0	23,3	767,3	12,6	715,7	12,5	828,7	85,2
C8-6	igG4	1042,3	91,3	892,3	107,0	801,7	77,4	792,3	48,4	769,7	109,9	736,3	43,1
5D5	mlgG1	4978,0	59,9	4912,3	287,7	3763,7	292,1	3320,7	40,1	1716,3	324,1	821,7	175,3
hlgG2	Control de isotipo	650,0	39,4	643,7	11,7	711,7	16,6	836,0	61,0	748,3	57,7	799,7	80,3
hlgG4	Control de isotipo	647,3	77,1	735,0	33,8	717,3	19,4	819,0	44,2	848,3	75,1	806,7	79,7
mlgG1	Control de isotipo	616,7	24,8	581,0	81,8	601,0	82,0	596,0	78,6	588,7	43,0	675,0	73,0
		prom. desv. tip.											
HGF	200 ng/ml	6292,7	733,0										
Sin tratar		615,1	83,9										

Los datos demuestran que en comparación con los controles de isotipo IgG, los presentes anticuerpos contra c-Met, C8-H241, no aumentan significativamente la captación de timidina-[metil-³H] en células PHH; C8-6, C8-co-16, D11-8B8, D11-C27G3 y D11-S17Y exhiben una estimulación baja, variable, pero estadísticamente significativa de la captación de timidina- [metil-³H]. Sin embargo, la actividad agonista de los presentes anticuerpos contra c-Met es significativamente menor que la del anticuerpo contra c-Met control 5D5. El anticuerpo agonista 5D5 estimula la proliferación de PHH de una manera dependiente de la dosis, con un aumento de 5 veces a una concentración de 3 µg/ml. A 200 ng/ml, HGF estimula un aumento de 5 veces la captación de ³H-timidina. El Acm C8-H241 no induce la proliferación ni cuando se utiliza a 10 µg/ml.

Se obtienen resultados similares en células epiteliales renales humanas HK2, que también proliferan en respuesta a la estimulación con HGF.

Ejemplo 13

Efecto de los anticuerpos sobre la morfogénesis tubular en las células HepG2 en ausencia de HGF

HGF induce cambios morfológicos tubulares en las células HepG2 cultivadas en Matrigel™(Becton-Dickinson, n.º 354 234), un material de matriz extracelular que contiene componentes de la membrana basal. En este experimento, se evalúa la actividad agonista de tupo HGF de los anticuerpos de la presente invención en la inducción de cambios morfológicos tubulares en las células HepG2.

Las células HepG2 (ATCC, n.º HB-8065) se cultivan en medio DMEM complementado con FBS al 10 %. 100 µl de una solución Matrigel™ (Matrigel™, Becton-Dickinson) diluido en Opi-MEMI (Invitrogen, n.º 31985) complementado con FBS al 10 % (v/v), L-glutamina 2 mM (Invitrogen, n.º 25030), 100 U/500 ml de penicilina G y 100 µg/500 ml de estreptomycin (Invitrogen, n.º 15140) se siembran en pocillos de placas de 96 pocillos de cultivo tisular (Costar, n.º 3596). Después de solidificarse la solución Matigel™, se añaden 2000 células HepG2 en 50 µl de medio de cultivo complementado con 10 % de suero. A continuación, a las células se añaden los anticuerpos c-Met y de control a una concentración final de 50 µg/ml, o HGF a una concentración final de 50 ng/ml. Las células se cultivan durante 4 días a 37 °C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % (v/v) de CO₂. Después de 4 días, se retira el medio de la parte superior y se reemplaza con 50 µl de 1 mg/ml de p-yodonitro-tetrazolio violeta (Sigma, n.º 18377) en PBS, y las células se incuban durante otras 48 horas en las mismas condiciones. Se toman fotografías del área teñida de 32 mm y se analizan utilizando Image-Pro Plus 6 (Media Cybernetics, Inc., MD).

En la Tabla 15 se muestran los datos de un experimento representativo para anticuerpos a 50 µg/ml.

Tabla 15

Efecto de los anticuerpos C8 sobre la morfogénesis tubular en células HepG2							
Anticuerpo (50 µg/ml)	hlgG4	C8-H241	C8-co16	C8-6	mIgG	5D5	HGF (50 ng/ml)
Morfogénesis tubular	Sin estimulación	Sin estimulación	Sin estimulación	1,2	1,2	4,9	5,4
Actividad agonista (factor de estimulación)							

Estos datos demuestran que el HGF y el anticuerpo agonista de control 5D5 inducen cambios morfológicos tubulares por aproximadamente 5 veces en las células HepG2 en comparación con el control de isotipo. En cambio, los presentes anticuerpos contra c-Met, C8-H241 y C8-co16, no inducen cambios morfológicos tubulares significativos en las células HepG2 en las mismas condiciones, mientras que el anticuerpo contra c-Met C8-6 induce sólo un bajo nivel de estimulación.

Se obtienen resultados similares con el Acm D11-8-B8.

Ejemplo 14

Efecto de los anticuerpos sobre la motilidad celular: Ensayo de dispersión con células DU145 y ensayo de raspado con células H441

Tras la estimulación con HGF, las células de cáncer de próstata DU145 se disocian unas de otras y las células H441 llenan un raspado hecho en una capa de células confluentes. Las células H441 exhiben un alto nivel de expresión de c-Met y fosforilación constitutiva de este receptor, pero todavía son sensibles a HGF. Los siguientes experimentos evalúan el efecto agonista de los anticuerpos de la presente invención sobre la motilidad celular en un ensayo de dispersión y un ensayo de raspado.

Ensayo de dispersión con células DU145

Las células DU145 (ATCC, n.º HTB-81) cultivadas en medio MEM (Invitrogen, n.º 11095) + FBS al 10 % (Invitrogen, n.º 10082) a 37 °C en 5 % (v/v) de CO₂ se siembran a 2 x 10³ células/pocillo en 70 µl de volumen en placas negras de 96 pocillos ViewPlate (Perkin Elmer, Waltham, MA, n.º 6005182) y se incuban durante la noche a 37 °C en 5 % (v/v) de CO₂. Los anticuerpos contra c-Met y control se diluyen en el medio de cultivo celular y se añaden a una concentración final de 20 µg/ml, y se añade HGF a una concentración final de 20 ng/ml, cada uno en 30 µl de volumen con doce repeticiones, y se incuban durante 48 horas a 37 °C en 5 % (v/v) de CO₂. Después se aspira el medio y las células se fijan en formaldehído al 2 % durante 15 minutos a temperatura ambiente. Los pocillos se lavan tres veces con PBS, y se añaden 50 µl de 5 U/ml de Alexa Fluor 488 faloidina (Invitrogen, n.º A12379) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Los pocillos se lavan tres veces con PBS y se añaden 50 µl de yoduro de propidio 15 µM (Invitrogen, n.º P3566). La placa se lee posteriormente en un citómetro de microplacas de fluorescencia de barrido láser Acumen Explorer™ (TTP Labtech Ltd, Cambridge, MA) utilizando el software Jockyss con el fin de determinar el porcentaje de células DU145 en colonias.

Los resultados se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16

Efecto de los anticuerpos en C8- y D11- en la dispersión de células DU145									
	Porcentaje de células DU145 en colonias								
	C8-H241	C8-6	C8-co-16	hlgG4	D11-8B8	hlgG2	5D5	HGF	Sin tratar
Promedio	24,13	23,29	23,69	24,41	25,57	25,67	14,45	8,15	26,53
Desv. Típica	3,35	1,37	2,30	2,02	1,98	3,13	0,34	1,23	2,44

Los datos demuestran que el Acm agonista de c-Met 5D5 y HGF, pero no los Acm de c-Met C8-H241, C8-co-16, C8-6 o D11-8B8, estimulan significativamente la dispersión/motilidad de las células DU145.

Ensayo de raspado con células H441

Para el ensayo de raspado con células H441, dichas células H441 (ATCC, n.º HTB-174) se cultivan en medio RPMI-1640 (Invitrogen, n.º 11835); FBS al 10% (v/v) (Invitrogen, n.º 10082); L-glutamina 2 mM (Invitrogen, n.º 25030); 100 U/500 ml de penicilina G, y 100 µg/500 ml de estreptomina (Invitrogen, n.º 15140), y se siembran a 1 x 10⁶ células/2 ml/pocillo en placas de cultivo tisular de 6 pocillos (Costar, n.º 3598) en el medio de cultivo. Las placas se incuban durante 3 días con 95 % de humedad relativa y 5 % (v/v) de CO₂. Después se aspira el medio y las células se privan de alimento en medio bajo en suero (FBS al 0,5 % (v/v) en medio RPMI) durante 16 horas. Las capas de células confluentes en el fondo de los pocillos se raspan con puntas de pipeta de 5 ml en el medio de cada pocillo y se aspiran las células que flotan. Las células restantes se lavan 1 vez con medio bajo en suero. Se añade medio bajo en suero y se obtienen imágenes de las zonas raspadas utilizando un microscopio de campo claro con un objetivo 4X. Estos huecos se definen como Huecos a las 0 horas.

Los anticuerpos de ensayo se añaden a las células a una concentración final de 10 µg/ml, seguido de incubación a 37 °C en 5% de CO₂ (v/v) durante 16 horas. El HGF se analiza a una concentración final de 200 ng/ml. Cada grupo de tratamiento se analiza al menos en pocillos duplicados. De nuevo se obtienen imágenes de las áreas raspadas utilizando un microscopio de campo claro a las 16 horas. Estos huecos se definen como Huecos a las 16 horas.

El efecto de los anticuerpos contra c-Met o de HGF sobre el movimiento de las células H441 para llenar los huecos se calcula de la siguiente manera:

Porcentaje de cambio promedio=

$$\frac{\text{Grupo de tratamiento (hueco a las 0 horas - Hueco a las 15 horas)}}{\text{Grupo de medio promedio (hueco a las 0 horas - Hueco a las 16 horas)}} \times 100$$

40

Los resultados se muestran en la Tabla 17.

Tabla 17

Efecto de los anticuerpos C8 en el Ensayo de raspado con células H441

Anticuerpo (10 µg/ml)	Prom. %	Desv. Est.
Medio	100	7
hIgG4	98	9
C8-H241	98	9
C8-6	102	4
mIgG1	98	18
Acm 5D5	244	4
HGF (200 ng/ml)	364	9

Los datos demuestran que el Acm agonista contra c-Met, 5D5, y el HGF, estimulan el movimiento de las células H441/para rellenar las zonas raspadas. En las mismas condiciones, los Acm contra c-Met, C8-H241 y C8-6, no estimulan la motilidad de las células H441.

Ejemplo 15**Efecto de los anticuerpos contra c-Met sobre la invasividad de las células HepG2**

Los anticuerpos agonistas contra c-Met y el HGF estimulan la invasión de las células portadoras de c-Met. En este ejemplo se examina la actividad agonista de los presentes anticuerpos contra c-Met en un ensayo de invasión celular empleando células HepG2, que son sensibles a HGF en un ensayo de invasión.

Las células HepG2 (ATCC, n.º HB-8065) se privan de alimento durante la noche en medio MEM sin suero (Invitrogen, n.º 11095) y después se añaden 5×10^4 células en un volumen total de 500 µl a cada pocillo de la cámara superior de una cámara de invasión de Matrigel (BD, Franklin Lakes, NJ, n.º 354483), en la que la cámara inferior contiene anticuerpos en un volumen total de 750 µl de medio sin suero a una concentración de 10 µg/ml, o HGF a 50 ng/ml en medio sin suero, seguido de incubación durante cuarenta y ocho horas a 37 °C en 5 % (v/v) de CO₂. Las células no invasoras se retiran de la cámara superior con un hisopo, seguido de fijación de la membrana con etanol al 95 % y tinción con violeta cristal al 0,2 % (p/v). Después del lavado y secado, el número de células invasoras se cuenta utilizando el software Image-Pro Plus 6 Manual Tag (Media Cybernetics, Inc. , MD) de análisis de fotografías tomadas de las células teñidas con un objetivo de 2,5X.

Los resultados se resumen en la Tabla 18.

Tabla 18

Efecto de los anticuerpos C8-, C8 y D11 sobre la invasividad de las células HepG2								
Concentración del anticuerpo (µg/ml)	Número de células promedio por 2,5 x campo							
	HlgG4	C8-H241	C8	mIgG1	optD11	5D5	HGF (50 ng/ml)	Medio
10,00	5,5	3,5	4,3	5,5	19,8	85,0	509,5	3,5
	Err. est.							
	0,5	0,9	1,3	0,5	4,1	20,4	4,5	0,5

Los datos demuestran que el Acm agonista contra c-Met, 5D5, y el HGF, pero no los Acm contra c-Met, C8-H241 y C8 (murino), estimulan la invasión de HepG2. El Acm contra c-Met murino, optD11, induce débilmente la invasión de células HepG2.

Ejemplo 16**Los anticuerpos C8- y D11- no protegen a las células Caki-1 de la apoptosis inducida por estaurosporina**

Los anticuerpos agonistas contra c-Met y el HGF protegen a las células de la muerte celular inducida por estaurosporina. En este ejemplo se examina la actividad agonista de los anticuerpos contra c-Met de la presente invención en un ensayo de apoptosis inducida por estaurosporina utilizando células Caki-1 que son sensibles a HGF.

Las células Caki-1 (ATCC, n.º HTB-46) se cultivan como se describe en el Ejemplo 11, se siembran a 1×10^4 células/pocillo en placas de 96 pocillos (Costar, n.º 3596) en medio de cultivo, y se pretratan con anticuerpos (diluidos desde 30.000 ng/ml a 3 ng/ml en el medio de cultivo celular), o HGF (diluido desde 225 ng/ml a 0,02 ng/ml), durante una hora, seguido de tratamiento con estaurosporina 0,1 µM (concentración final) durante cuarenta y ocho horas a 37 °C. El medio se aspira y las células se lisan durante 30 minutos con 0,2 ml del componente de tampón de

lisis del kit ELISA de detección de muerte celular (Roche Applied Science, Indianápolis, IN, n.º 11774425001). Este kit utiliza 20 µl de cada lisado para medir la muerte celular mediante la detección de fragmentos de ADN asociados a histonas citoplasmáticas, según determinado por absorción a 450 nm. Una densidad óptica a 450 nm más alta indica una mayor apoptosis.

- 5 Los resultados mostrados en la Tabla 19 demuestran que el HGF, pero no los Acm contra c-Met, C8-H241, C8-6, y D11-8B8, protege a las células Caki-1 de la apoptosis inducida por estaurosporina.

Tabla 19

Dosis del anticuerpo (ng/ml)	A450 nm promedio							
	hIgG4	C8-H241	C8-6	HGF	hIgG2	D11-8B8	Medio	ESTS*
3	0,95	0,83	1,09	0,97 (0,02 ng/ml)	0,95	1,02	0,24	0,87
30	0,98	0,84	1,02	0,93 (0,23 ng/ml)	0,91	0,91		
300	0,87	0,86	0,97	0,73 (2,25 ng/ml)	0,95	0,81		
3000	0,98	0,85	0,92	0,58 (22,5 ng/ml)	0,95	0,91		
30000	0,91	0,90	0,96	0,45 (225 ng/ml)	0,94	0,87		
	Err. est.							
3	0,03	0,02	0,19	0,02	0,07	0,01	0,01	0,03
30	0,03	0,01	0,14	0,06	0,00	0,11		
300	0,10	0,03	0,06	0,03	0,02	0,02		
3000	0,04	0,01	0,12	0,01	0,06	0,02		
30000	0,00	0,01	0,13	0,06	0,04	0,03		

*ESTS: Estaurosporina

Ejemplo 17

10 Efecto de los anticuerpos C8 sobre la angiogénesis

Los anticuerpos agonistas contra c-Met y HGF estimulan la angiogénesis. Los anticuerpos contra c-Met de la presente invención se evalúan para esta propiedad agonista funcional en el ensayo de formación de tubos de cocultivo de CMTA/CFCE. Las células madre derivadas de tejido adiposo (CMTA) expresan HGF; las células formadoras de colonias endoteliales (CFCE) forman tubos en respuesta a la estimulación por HGF.

- 15 Las CMTA (Lonza, Allendale, NJ, n.º PT-5006) de disocian, se resuspenden en medio basal (medio MCDB-131 (Sigma, St. Louis, MO n.º M8537)) + 30 µg/ml de ácido L-ascórbico-2-fosfato (Sigma n.º A8960), dexametasona 1 µM (Sigma n.º D4902), 50 µg/ml de tobramicina (Sigma n.º T4014), 10 µg/ml de cebador celular-transferrina AF (Millipore n.º 9701) + 10 µg/ml de nucelina (insulina recombinante humana de Lilly), se siembran a 4×10^4 células/pocillo en placas de 96 pocillos y se incuban durante la noche a 37 °C en 5 % (v/v) de CO₂. El medio se aspira y se añaden 500 µg/ml de heparina sódica (Sigma, n.º H3393) en medio basal a 100 µl/pocillo; las células se incuban después durante 1 hora a 37 °C. Los pocillos se aspiran, lavan una vez con 100 µl medio basal, y las CFCE se añaden de la siguiente manera: las CFCE (EndGenitor Technologies, Inc., Indianápolis, IN n.º EGT-CFCE100506) se disocian, se lavan en medio basal, se resuspenden en medio basal, y se añaden a 4×10^3 células/pocillo en la parte superior de CMTA en placas de 96 pocillos. Después de 4 horas de incubación a 37 °C, el HGF y los anticuerpos se diluyen en el medio de cultivo celular y se añaden a pocillos distintos a las siguientes concentraciones finales: HGF:100 ng/ml; anticuerpos: 10 µg/ml. El anticuerpo contra GHF (R&D Systems n.º AB-294-NA) también se añade a una concentración final de 10 µg/ml. Las células se incuban durante 4 días más a 37 °C. Los pocillos se aspiran y se añaden 100 µl/pocillo de paraformaldehído al 1 %, seguido de incubación durante 20-30 minutos. Las células se lavan tres veces con PBS-BSA (BSA al 0,1 %, Invitrogen n.º 15260-037) y se tratan con 50 µl de 1 µg/ml de anticuerpo CD31 contra ser humano (R & D Systems, n.º AF806) durante 1 hora a 37 °C o durante la noche a 4 °C. Las células se lavan dos veces con PBS-BSA y se tratan con 50 µl de IgG contra oveja 4 µg/ml conjugado con AlexaFluor488 (Invitrogen, n.º A11015) durante 1 hora a temperatura ambiente. Las células se lavan dos veces con PBS-BSA y se tiñen con 100 µl de colorante Hoechst3342 y se leen en un Cellomics ArrayScan (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). Se usa el software VHCS View Versión 1, 4.6 para determinar las áreas tubulares totales, que se utilizan para evaluar el efecto de los diversos anticuerpos y el HGF sobre la estimulación de la angiogénesis.

Los resultados se muestran en la Tabla 20.

Tabla 20

Efecto de los anticuerpos C8 sobre la formación de tubos en células CFCE								
Área total del tubo								
	Medio basal	hIgG4	C8-H241	C8-6	mIgG1	5D5	HGF Ab	HGF
Promedio	67753,3	90134,3	22979,7	65224,0	125538,3	147237,3	22824,3	212104,7
Desv. Est.	24221,6	17741,1	604,9	18275,9	34702,4	18748,1	6586,0	16588,5

Los resultados demuestran que C8-H241 y C8-6 no estimulan la formación de tubos en comparación con el medio o sus anticuerpos de control de isotipo correspondientes, mientras que el HGF y el Acm agonista 5D5 estimulan significativamente la formación de tubos.

Ejemplo 18

inhibición del crecimiento de células tumorales dependiente de HGF e independiente de HGF en modelos de xenoinjerto

La inhibición del crecimiento de células tumorales dependiente de HGF e independiente de HGF por los anticuerpos contra c-Met de la presente invención, se examina en ensayos *in vivo* empleando modelos de xenoinjerto de ratón de células MKN45 y U87MG (glioblastoma humano), respectivamente. Las células MKN45 expresan constitutivamente niveles altos de c-Met y fosforilación de c-Met en ausencia de HGF. Las células U87MG secretan HGF de una manera autocrina y son sensibles a HGF.

Las células MKN45 (Japan Health Sciences Foundation, Health Science Research Resource, n.º JCRB0254) se expanden en cultivo como se describe en el Ejemplo 8, se digieren con tripsina en células individuales, se recogen, y se resuspenden en PBS. Dos millones de células MKN45 en PBS se inyectan por vía subcutánea en el costado trasero de ratones desnudos atímicos (Harlan, Indianápolis, IN). Los anticuerpos contra c-Met y los anticuerpos IgG2 y IgG4 correspondientes se diluyen en PBS, pH 7,2, y se administran una vez a la semana por inyección intravenosa a partir de 3 o 7 días después de la implantación de las células tumorales en 1, 5, o 20 mg/ml. La inhibición del crecimiento de las células tumorales se determina por medición mediante calibre tridimensional de los volúmenes tumorales dos veces a la semana durante el curso del tratamiento. El peso corporal se mide como una medición general de la toxicidad.

Las células U87MG (ATCC n.º HTB-, 14) se cultivan en MEM (Invitrogen, n.º 11095) a 37 °C, se expanden en cultivo, se digieren con tripsina, se recogen y se resuspenden en PBS (Invitrogen, n.º 14190). Cinco millones de células se inyectan por vía subcutánea en el costado trasero de ratones desnudos atímicos (Harlan, Indianápolis, IN). Los anticuerpos contra c-Met se diluyen en PBS, y se administran una vez a la semana por inyección intravenosa a las dosis indicadas en la Tabla 22 a partir de 7 días después de la implantación de células tumorales. El anticuerpo control IgG4 se administra a 10 mg/kg. La inhibición del crecimiento de las células tumorales se determina por medición mediante calibre tridimensional de los volúmenes tumorales dos veces a la semana durante el curso del tratamiento. El peso corporal se mide como una medición general de la toxicidad.

En la Tabla 21 se resume la eficacia antitumoral de cuatro anticuerpos, D11-8B8, C8-H241, C8-6 y C8-Co-16, en el modelo de xenoinjerto de células MKN45. El "% de inhibición máxima" representa el porcentaje de inhibición del crecimiento del tumor en comparación con el tratamiento con el anticuerpo de control correspondiente (inhibición del 0 %).

Cuando se administran dosis de 5 mg/kg o de 20 mg/kg, los cuatro anticuerpos contra c-Met producen una inhibición significativa del crecimiento de las células tumorales MKN45 en comparación con sus correspondientes controles de isotipo IgG.

Tabla 21

Efecto de los anticuerpos C8 y D11 sobre el crecimiento tumoral independiente de HGF de MKN45 <i>in vivo</i>			
Anticuerpo	Nivel de dosis (mg/kg)	% de inhibición máxima	Valor p
D11-8B8	5	53	p<0,05
	20	56	p<0,01
C8-H241	1	39	NS
	5	63	p<0,01
	20	51	p<0,05

(continuación)

Efecto de los anticuerpos C8 y D11 sobre el crecimiento tumoral independiente de HGF de MKN45 <i>in vivo</i>			
Anticuerpo	Nivel de dosis (mg/kg)	% de inhibición máxima	Valor p
C8-6	1	60	p<0,001
	5	59	p<0,01
	20	73	p<0,001
C8-Co-16	1	36	NS
	5	60	p<0,001
	20	85	p<0,001

5 También se observa una inhibición dependiente de la dosis del crecimiento de células tumorales por C8-H241 en el modelo de xenoinjerto de células U87MG dependiente de HGF, tal como se resume en la Tabla 22. El "% de inhibición máxima" representa el porcentaje de inhibición del crecimiento tumoral en comparación con el tratamiento con el anticuerpo de control IgG4 correspondiente (inhibición del 0 %).

Tabla 22

Efecto del anticuerpo C8-H241 sobre el crecimiento tumoral de células U87MG dependiente de HGF <i>in vivo</i>			
Anticuerpo	Nivel de dosis (mg/kg)	% de inhibición máxima	Valor p
C8-H241	0,1	45,2	NS
C8-H241	0,3	86,8	p<0,001
C8-H241	1	91,9	p<0,001
C8-H241	3	91	p<0,001
C8-H241	10	94,8	p<0,001

10 A 5 y 20 mg/kg, el anticuerpo C8-H241 también inhibe el crecimiento tumoral de xenoinjerto de células H441 de cáncer de pulmón no microcítico un 58 % y 60 %, respectivamente. Las células H441 exhiben un alto nivel de expresión de c-Met y fosforilación constitutiva de c-Met, pero son aún sensibles a HGF.

Ejemplo 19

Reducción de anticuerpos contra c-Met Total y fosforilado en tumores de xenoinjerto MKN45

15 En este ejemplo se investiga la actividad *in vivo* del anticuerpo contra c-Met, C8-H241, sobre c-Met total y c-Met fosforilado en ratones portadores de tumores de xenoinjerto MKN45 (independiente de HGF). Se observa una reducción dependiente de la dosis de c-Met total y c-Met fosforilado (en la tirosina 1349) 24 horas después de la administración del anticuerpo.

20 Las células MKN45 se expanden en cultivo como se describe en el Ejemplo 8, se digieren con tripsina y se recogen. Dos millones de células MKN45 en PBS se inyectan por vía subcutánea en el costado trasero de ratones desnudos atímicos (Harlan, Indianápolis, IN). Los anticuerpos contra c-Met, C8-H241, se diluyen en PBS, a pH 7,2, y se administran por inyección intravenosa ocho días después de la implantación de células tumorales a 2,5, 5, 10, 20 y 40 mg/kg. El anticuerpo control hlgG4 se administra a 40 mg/kg. Después de 24 horas de tratamiento, se eliminan los tumores, se someten a congelación ultrarrápida, se conservan temporalmente en -80 °C, y se lisan en tampón de lisis (ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 5 mM, ácido etilenglicol-bis(b-aminoetil)-N,N,N',N'-tetraacético (EGTA) 5 mM, HEPES 50 mM, pirofosfato de sodio 20 mM (ThermoFisherScientific, n.º S390-500), NaCl 150 mM, NaF 20 mM, octilfenoxi polietoxi etanol al 1% (v/v) (TRITON®-X 100), inhibidor de proteasa completo, cóctel I de inhibidor de fosfatasa (Sigma n.º P2850) sin EDTA (Roche, Basilea, Suiza, n.º 1836153) y cóctel II de inhibidor de fosfatasa (Sigma n.º P5726).

ELISA de c-Met total

30 Para el ELISA de c-Met total, un anticuerpo de captura de c-Met se diluye en tampón de revestimiento Bup H (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, n.º 28382) a 2 µg/ml. Se añaden 100 µl de anticuerpo diluido por pocillo a placas de ELISA (ThermoFisherScientific, Waltham, MA n.º 439454), y las placas se incuban durante la noche a 4 °C. Los pocillos se aspiran, se lavan dos veces con TBS-T, y después se bloquean con 200 µl de tampón de bloqueo (TBS-T más BSA al 2 % (p/v)) durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavan dos veces con

TBS-T. A continuación, se añaden diluciones de los lisados tumorales o el dominio extracelular de c-met (aminoácidos 25-932 de la SEQ ID NO: 75) y las placas se incuban durante la noche a 4 °C. Después, las placas se lavan tres veces con TBS-T. A continuación, a cada pocillo se añaden 100 µl de 0,5 µg/ml de Acm 5D5 biotinilado (como anticuerpo secundario contra c-Met que se une a un epítipo de c-Met diferente del anticuerpo de captura) diluido en tampón de bloqueo y las placas se incuban durante 2 horas a temperatura ambiente. A continuación, las placas se lavan tres veces con TBS-T. Después se añaden 100 µl de estreptavidina conjugada con peroxidasa diluida a 1/10.000 (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, n.º 016-030-084) en tampón de bloqueo y la mezcla se incuba durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavan a continuación tres veces con TBS-T. Se añaden 100 µl de solución de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (BioFX, n.º TMBW-1000/01) a cada pocillo, seguido por la adición de 100 µl de solución de detención (BioFX, n.º LSTP-1000/01). Las placas se leen a 450 nm utilizando un lector de placas SpectraMax 250 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) con el software SOFTmax Pro 3. 1. 2 (Molecular Devices).

ELISA de c-Met fosforilado

Para el ELISA de fosfo-c-Met total, un anticuerpo de captura de c-Met se diluye en tampón de revestimiento Bup H (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, n.º 28382) a 2 µg/ml. Se añaden 100 µl del anticuerpo diluido por pocillo a placas de ELISA (ThermoFisherScientific, Waltham, MA n.º 439454), y las placas se incuban durante la noche a 4 °C. Los pocillos se aspiran, se lavan dos veces con TBS-T, y después se bloquean con 200 µl de tampón de bloqueo (TBS-T más BSA al 2 % (p/v)) durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavan dos veces con TBS-T. A continuación, se añaden los lisados de células MKN45 y las placas se incubaron durante la noche a temperatura ambiente. Las placas se lavan a continuación tres veces con TBS-T. Después, a cada pocillo se añaden 100 µl de 0,5 µg/ml de anticuerpo contra pY1349 de c-Met (Cell Signaling Technology, Danvers, Massachusetts, n.º 3121) diluido en tampón de bloqueo y las placas se incuban durante 2 horas a temperatura ambiente. A continuación, las placas se lavan tres veces con TBS-T. Después se añaden 100 µl de anticuerpo contra IgG de conejo conjugado con peroxidasa diluida a 1/10.000 (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, n.º 111-035-144) en tampón de bloqueo y la mezcla se incuba durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavan a continuación tres veces con TBS-T. Se añaden 100 µl de solución de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (BioFX, n.º TMBW-1000/01) a cada pocillo, seguido por la adición de 100 µl de solución de detención (BioFX, n.º LSTP-1000/01). Las placas se leen a 450 nm utilizando un lector de placas SpectraMax 250 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) con el software SOFTmax Pro 3. 1. 2 (Molecular Devices).

Los resultados se muestran en la Tabla 23.

Los datos demuestran que el tratamiento *in vivo* de tumores de xenoinjerto MKN45 con el Acm C8-H241 durante 24 horas, reduce al máximo el c-Met total en aproximadamente un 43 %, y el c-Met fosforilado en aproximadamente un 73 %, en estas condiciones.

Tabla 23

Reducción de c-Met total y fosforilado en tumores de xenoinjerto MKN45 después del tratamiento durante 24 horas con el anticuerpo contra c-Met C8-H241 <i>in vivo</i>							
Reducción de c-Met total							
% de inhibición		C8-H241					hlgG4
	PBS	2,5 mpk	5 mpk	10 mpk	20 mpk	40 mpk	40 mpk
% de inhibición promedio	-88,51	-8,43	4,26	25,07	42,85	30,62	0,00
% de inhibición desv. est.	62,63	-8,43	36,84	26,88	17,67	35,95	41,23
Reducción de c-Met fosforilado							
% de inhibición		C8-H241					hlgG4
	PBS	2,5 mpk	5 mpk	10 mpk	20 mpk	40 mpk	40 mpk
% de inhibición promedio	12,16	22,89	17,56	53,21	67,04	73,42	0,00
% de inhibición desv. est.	23,89	22,89	37,05	9,90	6,58	7,04	48,81

mpk: mg/kg

35

Secuencias de aminoácidos y nucleótidos

Secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera

D11-S17Y (SEQ ID NO: 1)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIYGTSYLAS
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYSFGQGTKLEIK

5 **D11-8B8 (SEQ ID NO: 2)**

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIYGTSYLAS
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYSFGQGTKLEIK

D11-C27G3 (SEQ ID NO: 3)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIYGTSRLRS
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYSFGQGTKLEIK

C8-6 (SEQ ID NO: 4)

10

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSVSSIYHLHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCIQYSGYPLTFGGGTKVEIK

C8-H241 (SEQ ID NO: 5)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSVSSIYHLHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQVYSGYPLTFGGGTKVEIK

C8-co-16 (SEQ ID NO: 6)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSVRSIYHLHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQVYRGYPLTFGGGTKVEIK

15 **Secuencias de ácidos nucleicos de la región variable de la cadena ligera**

D11-S17Y (SEQ ID NO: 7)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGTGTCAAGTATAAGTTCCACCAACTTACACTGGTACCAGCAGAAA
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGCACATCCTATCTGGCTTCTGGCATCCCA
GACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACAGTTTCGGC
CAAGGGACCAAGTTGGAGATCAAA

D11-8B8 (SEQ ID NO: 8)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGTGTCAAGTATAAGTTCCACCAACTTACACTGGTACCAGCAGAAA
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGCACATCCTACCTGGCTTCTGGCATCCCA
GACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACAGTTTCGGC
CAAGGGACCAAGTTGGAGATCAAA

20

D11-C27G3 (SEQ ID NO: 9)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGTGTGAGCTCAAGTATAAGTTCCACCAACTTACACTGGTACCAGCAGAAA
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGCACATCCAGACTGAGATCTGGCATCCCA
GACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACAGTTTCGGC
CAAGGGACCAAGTTGGAGATCAAAA

C8-6 (SEQ ID NO: 10)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCAGTGTGAGCTCAAGTGTAAAGTTCCATTTACTTGCAGTGGTATCAGCAGAAA
CCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATAGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCA
TCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAA
CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTATTTCAGTACAGTGGTTACCCGCTCACGTTTCGGC
GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAA

5

C8-H241 (SEQ ID NO: 11)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCAGTGTGAGCTCAAGTGTAAAGTTCCATTTACTTGCAGTGGTATCAGCAGAAA
CCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATAGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCA
TCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAA
CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTACAGGTGTACAGTGGTTACCCGCTCACGTTTCGGC
GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAA

C8-co-16 (SEQ ID NO: 12)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCAGTGTGAGCTCAAGTGTACGTTCCATTTACTTGCAGTGGTATCAGCAGAAA
CCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATAGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCA
TCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAA
CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTACAGGTGTACAGGGTTACCCGCTCACGTTTCGGC
GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAA

10 **Secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada**

D11-S17Y (SEQ ID NO: 13)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTSRYIHWVRQAPGQGLEWMGWIYP
VTGDTYYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGYGAFYYW
QGTLVTVS

D11-8B8 (SEQ ID NO: 14)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTSRYIHWVRQAPGQGLEWMGWIYP
VTGDTYYIEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGYGAFYYW
QGTLVTVS

D11-C27G3 (SEQ ID NO: 15)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSRYIHWVRQAPGQGLEWMGIYP
VTGDTYYREPFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGYGAFYYWG
QGTLVTVS

C8-6 (SEQ ID NO: 16)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGRV
NPNRRGTTYNQKFEGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDVAVYYCARTNWLDY
WGQGTITVTVS

5

C8-H241 (SEQ ID NO: 17)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGRV
NPNRRGTTYNQKFEGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDVAVYYCARANWLDY
WGQGTITVTVS

C8-co-16 (SEQ ID NO: 18)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGRV
NPYRGSTTYNQKFEGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDVAVYYCARANILDY
WGQGTITVTVS

Secuencias de ácidos nucleicos de la región variable de la cadena pesada

10

D11-S17Y (SEQ ID NO: 19)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCAAGTAGGTATATATACTGGGTGCGACAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTTATCCTGTAAGTGGTGATACTTACTAC
AACGAGAAGTTCAAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTAC
GGAGCTTTTTTACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCC

D11-8B8 (SEQ ID NO: 20)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCAAGTAGGTATATATACTGGGTGCGACAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTTATCCTGTAAGTGGTGATACTTACTAC
ATCGAGAAGTTCAAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTAT
GGTGCTTTTTTCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCC

D11-C27G3 (SEQ ID NO: 21)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCAAGTAGGTATATATACTGGGTGCGACAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTTATCCTGTAAGTGGTGATACTTACTAC
AGAGAGCCTTTCAAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTAT
GGGGCTTTTTTACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCC

15

C8-6 (SEQ ID NO: 22)

CAGGTTCAAGCTGGTGCAGTCTGGTGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGTGCCTCAGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCGACTACTACATGCACTGGGTGCGTCAGGCC
CCTGGTCAAGGCTTGTAGTGGATGGGTGCGTGTAAATCCTAACCGGGGTGGTACTACCTAC
AACCAGAAATTCGAGGGCCGTGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGCGTAGCCTGCGTTCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGTACGAAC
TGGCTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTCACCGTCTCC

C8-H241 (SEQ ID NO: 23)

CAGGTTCAAGCTGGTGCAGTCTGGTGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGTGCCTCAGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCGACTACTACATGCACTGGGTGCGTCAGGCC
CCTGGTCAAGGCTTGTAGTGGATGGGTGCGTGTAAATCCTAACCGGAGGGGTACTACCTAC
AACCAGAAATTCGAGGGCCGTGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGCGTAGCCTGCGTTCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGTACGAAC
TGGCTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTCACCGTCTCC

5 **C8-co-16 (SEQ ID NO: 24)**

CAGGTTCAAGCTGGTGCAGTCTGGTGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGTGCCTCAGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACATTCAGTACTACTACATGCACTGGGTGCGTCAGGCC
CCTGGTCAAGGCTTGTAGTGGATGGGTGCGTGTAAATCCTTATCGGGGTAGTACTACCTAC
AACCAGAAATTCGAGGGCCGTGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGCGTAGCCTGCGTTCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGTACGAAC
ATTCTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTCACCGTCTCC

Secuencias de aminoácidos de la cadena ligera completa

kappa de D11-S17Y (SEQ ID NO: 25)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIYGTSYLA
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYFSGQGTKLEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10 **kappa de D11-8B8 (SEQ ID NO: 26)**

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIYGTSYLA
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYFSGQGTKLEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

kappa de D11-C27G3 (SEQ ID NO: 27)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIYGTSRLRS
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYFSGQGTKLEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

kappa de C8-6 (SEQ ID NO: 28)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSVSSSVSSIYHLHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCIQYSGYPLTFGGGKVEIKRTVAAP

15

SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRKAVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

kappa de C8-H241 (SEQ ID NO: 29)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSVSSIYHLHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQVYSGYPLTFGGGKTKVEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRKAVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

kappa de C8-co-16 (SEQ ID NO: 30)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSVRSIYHLHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQVYRQYPLTFGGGKTKVEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRKAVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

Secuencias de ácidos nucleicos de la cadena ligera completa

LC de IgG2 de D11-S17Y (SEQ ID NO: 31)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGTGTGAGCTCAAGTATAAGTTCCACCAACTTACACTGGTACCAGCAGAAA
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGCACATCCTACCTGGCTTCTGGCATCCCA
GACAGGTTGAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACAGTTTCGGC
CAAGGGACCAAGTTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCG
CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
TATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCC
CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTTG
ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG
GGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

LC de IgG2 de D11-8B8 (SEQ ID NO: 32)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGTGTGAGCTCAAGTATAAGTTCCACCAACTTACACTGGTACCAGCAGAAA
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGCACATCCTACCTGGCTTCTGGCATCCCA
GACAGGTTGAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACAGTTTCGGC
CAAGGGACCAAGTTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCG
CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
TATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCC
CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTTG
ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG
GGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

10

LC de IgG2 de D11-C27G3 (SEQ ID NO: 33)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGTGTGAGCTCAAGTATAAGTTCCACCAACTTACACTGGTACCAGCAGAAA
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGCACATCCAGACTGAGATCTGGCATCCCA
GACAGGTTGAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACAGTTTCGGC
CAAGGGACCAAGTTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCG
CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
TATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCC
CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTTG
ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG
GGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

LC de IgG4 de C8-6 (SEQ ID NO: 34)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
 ATCACTTGCAAGTGTCAAGTGTAAAGTTCCATTTACTTGCACTGGTATCAGCAGAAA
 CCAGGGAAAGCCCTAAGCTCCTGATCTATAGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCA
 TCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAA
 CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTATTAGTACAGTGGTTACCCGCTCACGTTTCGGC
 GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTTCATCTTCCC
 CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
 TATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCC
 CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTG
 ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG
 GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

LC de IgG4 de C8-H241 (SEQ ID NO: 35)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
 ATCACTTGCAAGTGTCAAGTGTATCCTCCATTTACTTGCACTGGTATCAGCAGAAA
 CCAGGGAAAGCCCTAAGCTCCTGATCTATAGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCA
 TCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAA
 CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAAGTCTACAGTGGTTACCCGCTCACGTTTCGGC
 GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTTCATCTTCCC
 CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
 TATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCC
 CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTG
 ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG
 GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

5 LC de IgG4 de C8-co16 (SEQ ID NO: 36)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
 ATCACTTGCAAGTGTCAAGTGTACGTTCCATTTACTTGCACTGGTATCAGCAGAAA
 CCAGGGAAAGCCCTAAGCTCCTGATCTATAGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCA
 TCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAA
 CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAAGTGTACAGGGTTACCCGCTCACGTTTCGGC
 GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTTCATCTTCCC
 CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
 TATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCC
 CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTG
 ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG
 GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

Secuencias de aminoácidos de la cadena pesada completa

IgG2 D11-S17Y (SEQ ID NO: 37)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSRYIHWVRQAPGQGLEWMGWIYP
 VTGDTYYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGYGAFYYW
 GQGLTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
 LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVR
 KCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFN
 WYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSIVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGL
 PAPIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
 GQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYT
 QKSLSLSPG

IgG2 D11-8B8 (SEQ ID NO: 38)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTSRYIHWVRQAPGQGLEWMGWIYP
VTGDTYYIEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGYGAFYYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV ERK
CCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW
YVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLP
APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPG

IgG2 D11-C27G3 (SEQ ID NO: 39)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTSRYIHWVRQAPGQGLEWMGWIYP
VTGDTYYREPFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGYGAFYYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV ERK
CCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW
YVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLP
APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPG

5

IgG4 C8-6 (SEQ ID NO: 40)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGRV
NPNRGGTTYNQKFEGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARTNWL DY
WGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV E
RKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFN
WYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGL
PAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPG

IgG4 C8-H241 (SEQ ID NO: 41)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGRV
NPNRRGTTYNQKFEGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARANWL DY
WGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV E
RKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFN
WYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGL

PAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPG

IgG4 C8-co-16 (SEQ ID NO: 42)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYYMHWRQAPGQGLEWMGRV
NPYRGSTTYNQKFEGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARANILDYW
GQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVR
KCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFN
WYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGL
PAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPG

Secuencias de ácidos nucleicos de la cadena pesada completa

5 HC de IgG2 de D11-S17Y (SEQ ID NO: 43)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTCACAAGTAGGTATATACACTGGGTGCGACAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTTATCCTGTAAGTGGTGATACTTACTAC
AACGAGAAGTTCAAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTAT
GGGGCTTTTTACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCCTCCGCCTCCACCAAG
GGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCC
CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGG
GCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCC
CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAAC
GTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTC
GAGTGCCACCGTGCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCA
AAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCCTGGTGGTGGAC
GTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCATGGAGGTGCAT
AATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTC
CTCACCGTCTGTCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAAC
AAAGGCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAA
CCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAAGCCTG
ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG
CAGCCGAGAACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC
CTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCG
GGT

HC de IgG2 de D11-8B8 (SEQ ID NO: 44)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACAAGTAGGTATATACACTGGGTGCGACAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTTATCCTGTAACCTGGTGATACTTACTAC
ATCGAGAAGTTC AAGGGCAGAGTACAGATTACCGCGGACAAAATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTAT
GGTGCTTTTTTCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCCTCCGCTCCACCAAG
GGCCCATCGGTCTTCCCCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCC
CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGC
GCCCTGACCAGCGGCTGCACACCTTCCCCTGCTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCC
CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAAC
GTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTC
GAGTGCCACCGTGCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCA
AAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGAC
GTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCATGGAGGTGCAT
AATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTTCAGCGTC
CTCACCGTTCGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAAC
AAAGGCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAA
CCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTTCAGCCTG
ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG
CAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC
CTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCG
GGT

HC de IgG2 de D11-C27G3 (SEQ ID NO: 45)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACAAGTAGGTATATACACTGGGTGCGACAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTTATCCTGTAACCTGGTGATACTTACTAC
AGAGAGCCTTTCAAGGGCAGAGTACAGATTACCGCGGACAAAATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTAC
GGAGCTTTTTTACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCCTCCGCTCCACCAAG
GGCCCATCGGTCTTCCCCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCC
CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGC
GCCCTGACCAGCGGCTGCACACCTTCCCCTGCTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCC
CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAAC
GTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTC
GAGTGCCACCGTGCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCA
AAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGAC
GTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCATGGAGGTGCAT
AATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTTCAGCGTC
CTCACCGTTCGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAAC
AAAGGCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAA
CCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTTCAGCCTG
ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG
CAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC
CTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCG
GGT

HC de IgG4 de C8-6 (SEQ ID NO: 46)

CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGTGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGTGCCTCAGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCGACTACTACATGCACTGGGTGCGTCAGGCC
CCTGGTCAAGGTCTTGAGTGGATGGGTCGTGTTAATCCTAACCGGGGTGGTACTACCTAC
AACCAGAAATTCGAGGGCCGTGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGCGTAGCCTGCGTTCGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGTACGAAC
TGGCTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTCACCGTCTCCTCCGCTCCACCAAGGGC
CCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTG
GGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAACCTCAGGCGCC
CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCCTCAGGACTCTACTCCCTC
AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTA
GATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCA
TGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGGACCATCAGTCTTCCCTGTTCCCCCA
AAACCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGAC
GTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCACCTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCAT
AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC
CTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC
AAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAG
CCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTG
ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGCAATGGG
CAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC
CTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTG
GGT

HC de IgG4 de C8-H241 (SEQ ID NO: 47)

CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGTGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGTGCCTCAGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACATTCAGTACTACTACATGCACTGGGTGCGTCAGGCC
CCTGGTCAAGGTCTTGAGTGGATGGGTCGTGTTAATCCTAACCGGAGGGGTACTACCTAC
AACCAGAAATTCGAGGGCCGTGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGCGTAGCCTGCGTTCGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGTACGAAC
TGGCTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTCACCGTCTCCTCCGCTCCACCAAGGGC
CCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTG
GGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAACCTCAGGCGCC
CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCCTCAGGACTCTACTCCCTC
AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTA
GATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCA
TGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGGACCATCAGTCTTCCCTGTTCCCCCA
AAACCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGAC
GTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCACCTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCAT
AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC
CTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC
AAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAG
CCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTG
ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGCAATGGG
CAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC
CTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTG
GGT

HC de IgG4 de C8-co16 (SEQ ID NO: 48)

CAGGTT CAGCTGGTGCAGTCTGGTGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGTGCCTCAGTGAAGGTC
 TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACATTCCTGACTACTACATGCACTGGGTGCGTCAGGCC
 CCTGGTCAAGGCTTGTAGTGGATGGGTCGTGTTAATCCTTATCGGGGTAGTACTACCTAC
 AACCAGAAATTCGAGGGCCGTGTACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
 ATGGAGCTGCGTAGCCTGCGTTCTGACGACACGGCCGTGATTACTGTGCGCGTGCGAAC
 ATTCTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTCACCGTCTCCTCCGCCCTCCACCAAGGGC
 CCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTG
 GGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAACCTCAGGGCC
 CTGACCAGCGCGGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTC
 AGCAGCGTGGTACCCTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTA
 GATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCA
 TGCCACCCTGCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGGACCATCAGTCTTCCCTGTTCCCCCA
 AAACCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACGTCGCTGGTGGTGGAC
 GTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCAT
 AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTACGCGTC
 CTCACCGTCCGTCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAAC
 AAAGGCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAG
 CCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTG
 ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGCAATGGG
 CAGCCGGAGAACAATAAGACCACGCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTTC
 CTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTGT
 GGT

DEC de c-Met humano-Fc-Flis (SEQ ID NO: 72)

MKAPAVLAPGILVLLFTLVQRSNGECKEALAKSEMNVNMKYQLPNFTAETPIQN
VILHEHHIFLGATNYIYVLNEEDLQKVAEYKTGPVLEHPDCFPQCDCSSKANLSG
GVWKDNINMALVVDTYDDQLISCGSVNRGTCQRHVFPNHHTADIQSEVHCIFS
PQIEEPSQCPDCVVSALGAKVLSSVKDRFINFFVGNTINSSYFPDHLHSISVRLK
ETKDGFMFLTDQSYIDVLPFRDSYPIKYVHAFESNNFIYFLTVQRETLDAQTFHT
RIIRFCSINSLHSYMEMPLECILTEKRKKRSTKKEVFNILQAAYVSKPGAQLARQI
GASLNDDILFGVFAQSKPDSAEPMDRSAMCAFPKYVNDFFNKIVNKNVRLCQ
HFYGNHEHCFNRTLNRSSGCEARRDEYRTEFTALQRVDLFGMQFSEVLLTSI
STFIKGLTIANLGTSEGRFMQVVVSRSGPSTPHVNFLLDSHPVSPEVIVEHTLNQ
NGYTLVITGKKITKIPLNGLGRHFQSCSQCLSAPPFVQCGWCHDKCVRSEECLS
GTWTQQICLPAIYKVPNSAPLEGGTRLTICGWDFGFRNKNKFDLKKTRVLLGNE
SCTLTLSESTMNTLKCTVGPAMNKHFNMSIIISNGHGTTQYSTFSYVDPVITSISPK
YGPMAGGTLTLTGNYLNSGNSRHISIGGKTCTLKSVSNSILECYTPAQSTIFEFA
VKLIKIDLANRETSIFSREDPIVYEIHPTKSFISGGSTITGVGKNLNSVSVPRMVIN
HEAGRNFTVACQHRNSNIEICCTTPSLQQLNLQLPLKTKAFFMLDGILSKYFDLIY
VHNPVFKPFEKPVMMISGNENVLEIKGNDIDPEAVKGEVLKVGKNSCENIHLHSE
AVLCTVPNDLLKLNSELNIEWKQAISSTVLGKVVVQPDQNFTELVLFQGPDIPEKS
CDKTHTCPPEPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAPIEKTKAKGQPREPQEYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGKRIDYKDDDDKHVHHHHHHH

Los aminoácidos en negrita y cursiva representan la secuencia señal; los aminoácidos subrayados en negrita representan la etioqueta Flis.

DEC de c-Met de mono cinomolgo-Fc-Flis (SEQ ID NO: 73)

***MKAPAVLVP**GILVLL**FTLVQRS**NGECKEALAKSEMNVNMKYQLPNFTAETAIQN
VILHEHHIFLGATNYIYVLNEEDLQKVAEYKTGPVLEHPDCFPQCDCSSKANLSG
GVWKDNINMALVVDTYDDQLISCGSVNRGTCQRHVFPHNHTADIQSEVHCIFS
PQIEEPNQCPCVVSALGAKVLSSVKDRFINFFVGNINSSYFPHHPLHSISVRRLK
ETKDGFMFLTDQSYIDVLPEFRDSYPIKYIHAFESNNFIYFLTVQRETLNAQTFHTR
IIRFCSLNSGLHSYMEMPLECILTEKRKKRSTKKEVFNILQAAYVSKPGAQLARQI
GASLNDDILFGVFAQSKPDSAEPMDRSAMCAFPIKYVNDFFNKIVNKNVVRCLQ
HFYGPNEHECFNRLLRNSSGCEARRDEYRAEFTTALQRVDLFMGQFSEVLLTSI
STFVKGDLTIANLGTSEGRFMQVVVSRSGPSTPHVNFLLDSPVSPVIVEHPLNQ
NGYTLVVTGKKITKIPLNGLGCRHFQSCSQCLSAPPFVQCGWCHDKCVRSEECPS
GTWTQQICLPAIYKVFPTSAPLEGGTRLTICGWDFGFRRNKFDLKKTRVLLGNE
SCTLTLESTMNTLKCTVGPAMNKHFNMSIIISNGHGTTQYSTFSYVDPITISPK
YGPMAGGTLTTLTGNYNLSGNSRHISIGGKTCTLKSVSNSILECYTPAQTISTEFA
VKLKIDLANRETSIFSYPYREDPIVYIEIHPKSFISGGSTITGVGKNLHVSVPVPRMVIN
HEAGRNFVACQHRSNSEIICCTTPSLQQLNLQLPLKTKAFFMLDGILSKYFDLIY
VHNPVFKPFKPMISMGNENVLEIKGNDIDPEAVKGEVLKVGKNSCENIHLHSE
AVLCTVPNDLLKLNSELNIEWKQAISSTVLGKVIVQPDQNFTLEVLVFGQPDIEPKS
CDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAPIEKTISKAKGQPREPQEYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGKRIDY**KDDDDKHVHHHHHH***

5

Los aminoácidos en negrita y cursiva representan la secuencia señal; los aminoácidos subrayados en negrita representan la etiqueta Flis.

DEC de c-Met de rata-Fc-Flis (SEQ ID NO: 74)

***MKAPTALAPGILLLLT**LAQR**SHG**ECKEALVKSEMNVNMKYQLPNFTAETPIHN
VVLHGHHIYLGATNYIYVLNDKDLQKVSEFKTGPVVEHPDCFCQDCSSKANVS
GGVWKDNVNMALLVDITYDDQLISCGSVNRGTCQRHVLPPDNAADIQSEVHC
MFSPLAEEESGQCPDCVVSALGAKVLLSEKDRFINFFVGNTINSSYPDYSLHSISV
RRLKETQDGFKFLTDQSYIDVLEPFRDSYPIKIYIHAFESNHFIYFLTVQKETLDAQT
FHTRIIRFCVSDSGLHSYMEMPLCILTEKRRKRSTREEVFNILQAAYVSKPGANL
AKQIGASPYDDILYGVFAQSKPDSAEPMNRSAVCAFPIKYVNDFFNKIVNKNNV
CLQHFYGNHEHCFNRTLLRNSSGCEVRSDEYRTEFTTALQRVDLFMGRLNHVL
LTSISTFIKGDLTIANLGTSEGRFMQVVLSTRAHFTPHVNFLLDSPVVSPEVIVEHP
SNQNGYTLVVTGKKITKIPLNGLGCGHFQSCSQCLSAPYFIQCGWCHNRCVHSNE
CPSGTWTQEICLPAVYKVFPTSAPLEGGTMLTICGWDFGFKKNNKFDLRKTKVLL
GNESCTLTLESTTNTLKCTVGPAMSEHFNVSVIVSNSRETTQYSAFSYVDPVITSI
SPRYGPHAGGTLLTLTGKYLNSGNSRHISIGGKTCTLKSVSDSILECYTPGHTVSA
EFPVKLKIDLADRVTSFSYREDPVVSEIHPTKSFISGGSTITGIGKNLNSVSTPKLV
IEVHDVGVNYTVACQHRSSSEIICCTTPSLQQLDLQLPLKTKAFFLLDGILSKHFDL
TYVHDPMFKPFKPMISMGNENVVEIKGDDIDPEAVKGEVLKVGKSCENLH
WHSEALLCTVPSDLLKLNGGELNIEWKQAVSSTVLGKVIVQPDQNFALVLFQG
PDIEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQEYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGKR**IDYKDDDDKHVHHHHH***

5 Los aminoácidos en negrita y cursiva representan la secuencia señal; los aminoácidos subrayados en negrita representan la etiqueta Flis.

DEC de c-Met humano (SEQ ID NO: 75)

***MKAPAVLAPGILVLLFTLVQRS**NGECKEALAKSEMNVNMKYQLPNFTAETPIQN
VILHEHHIFLGATNYIYVLNEEDLQKVAEYKTGPVLEHPDCFPCQDCSSKANLSG
GVWKNINMALVVDTYYDDQLISCGSVNRGTCQRHVFPNHNTADIQSEVHCIFS
PQIEEPSQCPDCVVSALGAKVLSSVKDRFINFFVGNTINSSYFPDHPLHSISVRRLK
ETKDGMFLTDQSYIDVLEFRDSYPIKYVHAFESNNFIYFLTVQRETLDATFHT
RIIRFCSINSGLHSEMEMPLECILTEKRKKRSTKKEVFNILQAAAYVSKPGAQLARQI
GASLNDDILFGVFAQSKPDSAEPMDRSAMCAFPIKYVNDFFNKIVNKNVVRCLQ
HFYGNHEHCFNRTLLRNSSGCEARRDEYRTEFTTALQRVDLFMGQFSEVLLTSI
STFIKGLDTIANLGTSEGRFMQVVVSRSGPSTPHVNFLDLSHPVSPEVIVEHTLNQ
NGYTLVITGKKITKIPLNGLGCRHFQSCSQCLSAPPFVQCGWCHDKCVRSEECLS
GTWTQQICLPAIYKVPNSAPLEGGTRLTICGWDFGFRNKNKFDLKKTRVLLGNE
SCTLTLSESTMNTLKCTVGPAMNKHFNMSIIISNGHGTTQYSTFSYVDPVITSISPK
YGPMAGGTLTTLTGNYLNSGNSRHISIGGKTCTLKSVSNSILECYTPAQTISTEFA
VKLKIDLANRETSIFSREDPIVYIEIHPTKSFISGGSTITGVGKNLNSVSVPRMVINV
HEAGRNFVACQHRNSSEIICCTTPSLQQLNLQLPLKTKAFFMLDGILSKYFDLIY
VHNPVFKPFEKPVMISMGNENVLEIKGNDIDPEAVKGEVLKVGKNSCENIHLHSE
AVLCTVPNDLLKLNSELNIEWKQAISSTVLGKVIVQPDQNFT*

Los aminoácidos en negrita y cursiva representan la secuencia señal.

Dominio Sema de c-Met humano con etiqueta Flis (SEQ ID NO: 76)

***MKAPAVLAPGILVLLFTLVQRS**NGECKEALAKSEMNVNMKYQLPNFTAETPIQN
VILHEHHIFLGATNYIYVLNEEDLQKVAEYKTGPVLEHPDCFPCQDCSSKANLSG
GVWKNINMALVVDTYYDDQLISCGSVNRGTCQRHVFPNHNTADIQSEVHCIFS
PQIEEPSQCPDCVVSALGAKVLSSVKDRFINFFVGNTINSSYFPDHPLHSISVRRLK
ETKDGMFLTDQSYIDVLEFRDSYPIKYVHAFESNNFIYFLTVQRETLDATFHT
RIIRFCSINSGLHSEMEMPLECILTEKRKKRSTKKEVFNILQAAAYVSKPGAQLARQI
GASLNDDILFGVFAQSKPDSAEPMDRSAMCAFPIKYVNDFFNKIVNKNVVRCLQ
HFYGNHEHCFNRTLLRNSSGCEARRDEYRTEFTTALQRVDLFMGQFSEVLLTSI
STFIKGLDTIANLGTSEGRFMQVVVSRSGPSTPHVNFLDLSHPVSPEVIVEHTLNQ
NGYTLVITGKKITKIPLNGLGCRHFQSCSQCLSAPPFVQCGWCHDKCVRSEECLS
GTWTQQICL**DYKDDDDKHVHHHHHH***

5 Los aminoácidos en negrita y cursiva representan la secuencia señal; los aminoácidos subrayados en negrita representan la etiqueta Flis.

Epítomos del anticuerpo C8 en el dominio extracelular de c-Met humano

121VVDTYYDDQL₁₃₀ (SEQ ID NO:77)

10 131ISCGSVNRGTCQRHVFPNHNTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO:78)

179ALGAKVLSSVKDRFINF₁₉₅ (SEQ ID NO:79)

216VRRLLKETKDGFM₂₂₇ (SEQ ID NO:80)

123DTYYDD₁₂₈ (SEQ ID NO:81)

144HVFPNHHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO: 82)

192FINF₁₉₅ (SEQ ID NO:83)

5 220KETKDGFM₂₂₇ (SEQ ID NO:84)

Epítotos del anticuerpo D11 en el dominio extracelular de c-Met humano

84YKTGPVLEHPDCFPCQDCSSKANL₉₅ (SEQ ID NO:85)

95CFPCQDCSSKA₁₀₅ (SEQ ID NO:86)

Secuencias consenso de CDR

10 **CDR2 de la cadena ligera del anticuerpo D11-**

GTSX₁LX₂S (SEQ ID NO: 87), en la que X₁ es Y o R, y X₂ es A o R;

CDR1 de la cadena ligera del anticuerpo C8-

SVSSSVX₃SIYLH (SEQ ID NO: 88), en la que X₃ es S o R;

CDR3 de la cadena ligera del anticuerpo C8-

15 X₄X₅YX₆GYPLT (SEQ ID NO: 89), en la que X₄ es I o Q, X₅ es Q o V, y X₆ es S o R;

CDR2 de la cadena pesada del anticuerpo D11-

WIYPVTGDTYYX₇EX₈FKG (SEQ ID NO: 90), en la que X₇ es N, I, o R, y X₈ es K o P;

CDR3 de la cadena pesada del anticuerpo D11-

GYGAFX₉Y (SEQ ID NO: 91), en la que X₉ es Y o F;

20 **CDR2 de la cadena pesada del anticuerpo C8-**

RVNPX₁₀RX₁₁X₁₂TTYNQKFEG (SEQ ID NO: 92), en la que X₁₀ es N o Y, X₁₁ es G o R, y X₁₂ es G o S;

CDR3 de la cadena pesada del anticuerpo C8-

X₁₃NX₁₄LDY (SEQ ID NO: 93), en la que X₁₃ es T o A, y X₁₄ es W o I;

Secuencias consenso de la región variable de la cadena ligera

25 **Secuencia consenso de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo D11- (SEQ ID NO: 94)**

EIVLTQSPGTL_{SL}SPGERATL_{SC}SVSSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIY
GTSX₁LX₂SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYSFG
QGTKLEIK

en la que X₁ es Y o R, y X₂ es A o R;

Secuencia consenso de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo C8- (SEQ ID NO: 95)

DIQMTQSPSSLSASV_{GDR}VTITCSVSSSVX₃SIYLHWYQQKPGKAPKLLIY
STSNLASGVPSR_FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCX₄X₅YX₆GYPLTFG
GGTKVEIK

30

en la que X₃ es S o R, X₄ es I o Q, X₅ es Q, o V, y X₆ es S o R;

Secuencias consenso de la región variable de la cadena pesada

Secuencia consenso de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo D11- (SEQ ID NO: 96)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSRYYHWVRQAPGQGLEWMGW
IYPVTGDTYYX₇EX₈FKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGY
GAFX₉YWGQGTLVTVS

en la que X₇ es N, I, o R, X₈ es K o P, y X₉ es Y o F;

5 Secuencia consenso de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo C8- (SEQ ID NO: 97)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGR
VNPX₁₀RX₁₁X₁₂TTYNQKFEGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARX₁₃
NX₁₄LDYWGQGTITVTVS

en la que X₁₀ es Y o N, X₁₁ es G o R, X₁₂ es S o G, X₁₃ es A o T, y X₁₄ es I o W.

La invención que se divulga se describirá ahora con referencia a las siguientes cláusulas numeradas.

1. Un anticuerpo monoclonal que:

- 10 a) se une a un epítipo dentro de la cadena α de c-Met humano,
b) induce la internalización de c-Met humano de superficie celular.

2. El anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo de la cláusula 1, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo induce la internalización independiente del factor de crecimiento de hepatocitos de c-Met humano de superficie celular.

- 15 3. El anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las cláusulas 1-2, que induce la internalización de c-Met humano en células que comprenden una variante de c-Met humano que contiene una mutación de ganancia de función, seleccionada del grupo que consiste en la mutación M1149T del dominio quinasa de c-Met y la mutación R988C del dominio de juxtamembrana.

- 20 4. El anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las cláusulas 1-3, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une dentro de una secuencia de aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en:

- 25 a) ¹²¹VVDYYDDQL₁₃₀ (SEQ ID NO: 77),
b) ¹³¹ISCGSVNRGTCQRHVFPNHHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO: 78),
c) ¹⁷⁹ALGAKVLSSVKDRFINF₁₉₅ (SEQ ID NO: 79) y
d) ²¹⁶VRRLLKTKDGF₂₂₇ (SEQ ID NO: 80).

5. El anticuerpo monoclonal de una cualquiera de las cláusulas 1-4, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une dentro de una secuencia de aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en:

- 30 a) ¹²³DTYYDD₁₂₈ (SEQ ID NO: 81),
b) ¹⁴⁴HVFPNHHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO: 82),
c) ¹⁹²FINF₁₉₅ (SEQ ID NO: 83) y
d) ²²⁰KETKDGFM₂₂₇ (SEQ ID NO: 84).

- 35 6. El anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las cláusulas 1-5, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une a una secuencia de aminoácidos dentro del epítipo conformacional caracterizado por ¹²³DTYYDD₁₂₈ (SEQ ID NO: 81), ¹⁴⁴HVFPNHHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO: 82), ¹⁹²FINF₁₉₅ (SEQ ID NO: 83) y ²²⁰KETKDGFM₂₂₇ (SEQ ID NO: 84) inclusive.

7. El anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las cláusulas 1-3, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une dentro de una secuencia de aminoácidos ⁸⁴YKTGPVLEHPDCFPCQDCSSKANL₁₀₇ (SEQ ID NO: 85) inclusive.

- 40 8. El anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las cláusulas 1-3, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une dentro de una secuencia de aminoácidos ⁹⁵CFPCQDCSSKA₁₀₅ (SEQ ID NO: 86) inclusive.

9. El anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las cláusulas 1-8, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en las que dichas tres LCDR y dichas tres HCDR se seleccionan del grupo que consiste en:

- a) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49);
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos GTSX₁LX₂S (SEQ ID NO: 87), en la que X₁ es Y o R, y X₂ es A o R;
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51);
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59);
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYX₇EX₈FKG (SEQ ID NO: 90), en la que X₇ es N, I o R, y X₈ es K o P; y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFX₉Y (SEQ ID NO: 91), en la que X₉ es Y o F; y
 b) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVX₃SIYLH (SEQ ID NO: 88), en la que X₃ es S o R;
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54).
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos X₄X₅YX₆GYPLT (SEQ ID NO: 89), en la que X₄ es I o Q, X₅ es Q o V, y X₆ es S o R;
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65),
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNXPX₁₀RX₁₁X₁₂TTYNQKFEG (SEQ ID NO: 92), en la que X₁₀ es N o Y, X₁₁ es G o R, y X₁₂ es G o S; y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos X₁₃NX₁₄LDY (SEQ ID NO: 93), en la que X₁₃ es T o A, y X₁₄ es W o I.

10. El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1, 3, 7 y 9, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en la que LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49),

LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos GTSX₁LX₂S (SEQ ID NO: 87), en la que X₁ es Y o R, y X₂ es A o R,
 LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51),
 HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59),
 HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYX₇EX₈FKG (SEQ ID NO: 90), en la que X₇ es N, I o R, y X₈ es K o P, y
 HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFX₉Y (SEQ ID NO: 91), en la que X₉ es Y o F.

11. El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-6, 8 y 9, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en la que LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVX₃SIYLH (SEQ ID NO: 88), en la que X₃ es S o R;

LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54),
 LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos X₄X₅YX₆GYPLT (SEQ ID NO: 89), en la que X₄ es I o Q, X₅ es Q o V, y X₆ es S o R,
 HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65),
 HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos RVNXPX₁₀RX₁₁X₁₂TTYNQKFEG (SEQ ID NO: 92), en la que X₁₀ es N o Y, X₁₁ es G o R, y X₁₂ es G o S, y
 HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos X₁₃NX₁₄LDY (SEQ ID NO: 93), en la que X₁₃ es T o A, y X₁₄ es W o I.

12. El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-11, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en la que dichas tres LCDR y dichas tres HCDR se seleccionan del grupo que consiste en:

- a) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49),
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos GTSYLAS (SEQ ID NO: 50),
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51),
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59),
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYNEKFKG (SEQ ID NO: 60), y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFYY (SEQ ID NO: 61);

- b) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49),
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos GTSYLAS (SEQ ID NO: 50),
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51),
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59)

HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYIEKFKG (SEQ ID NO: 62), y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFYY (SEQ ID NO: 63);

5 c) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49), LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos GTSRLRS (SEQ ID NO: 52), LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51), HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59), HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYREPFGK (SEQ ID NO: 64), y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFYY (SEQ ID NO: 61);

10 d) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53), LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54), LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos IQYSGYPLT (SEQ ID NO: 55), HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65), HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 66), y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos TNWLDY (SEQ ID NO: 67);

15 e) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53), LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54), LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QVYSGYPLT (SEQ ID NO: 56), HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65), HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 68), y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos ANWLDY (SEQ ID NO: 69), y

20 f) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVRSIYLH (SEQ ID NO: 57), LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54), LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QVYRGYPLT (SEQ ID NO: 58), HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65), HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 70), y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos ANILDY (SEQ ID NO: 71).

30 13. El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-3, 7, 9, 10 y 12, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en el que dichas tres LCDR y dichas tres HCDR se seleccionan del grupo que consiste en:

35 a) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49), LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos GTSYLAS (SEQ ID NO: 50), LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51), HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59), HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYNEKFKG (SEQ ID NO: 60), y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFYY (SEQ ID NO: 61);

40 b) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49), LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos GTSYLAS (SEQ ID NO: 50), LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51), HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59), HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYIEKFKG (SEQ ID NO: 62), y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFYY (SEQ ID NO: 63);

45 c) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSISSTNLH (SEQ ID NO: 49), LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos GTSRLRS (SEQ ID NO: 52), LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQWSSYPYS (SEQ ID NO: 51), HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSRYIH (SEQ ID NO: 59), HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos WIYPVTGDTYYREPFGK (SEQ ID NO: 64), y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYGAFYY (SEQ ID NO: 61).

50 14. El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-6, 8, 9, 11 y 12, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en el que dichas tres LCDR y dichas tres HCDR se seleccionan del grupo que consiste en:

55 a) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53), LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54), LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos IQYSGYPLT (SEQ ID NO: 55), HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65), HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 66), y HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos TNWLDY (SEQ ID NO: 67);

- b) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53),
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54),
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QVYSGYPLT (SEQ ID NO: 56),
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65),
 5 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRRGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 68), y HCDR3
 que comprende la secuencia de aminoácidos ANWLDY (SEQ ID NO: 69), y
- c) LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVRSIYLH (SEQ ID NO: 57),
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54),
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos QVYRGYPLT (SEQ ID NO: 58),
 10 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65),
 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNYRGSTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 70), y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos ANILDY (SEQ ID NO: 71).
15. El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-3, 8,
 9, 11, 12 y 14, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y
 15 tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en el que
- LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53),
 LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54),
 LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos IQYSGYPLT (SEQ ID NO: 55),
 HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65),
 20 HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRRGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 66), y
 HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos TNWLDY (SEQ ID NO: 67);
16. El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de las cláusulas 1-6, 9, 11, 12 y 14, que
 comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones
 determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en el que
- 25 LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53),
 LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54),
 LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos QVYSGYPLT (SEQ ID NO: 56),
 HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65),
 HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos
 30 RVNPNRRGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 68), y
 HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos ANWLDY (SEQ ID NO: 69).
17. El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-16,
 que comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) y una región variable de la cadena pesada (HCVR),
 en el que dicha LCVR y dicha HCVR, respectivamente, comprenden las secuencias de aminoácidos seleccionadas
 35 del grupo que consiste en:
- a) SEQ ID NO: 94 y SEQ ID NO: 96; y
 b) SEQ ID NO: 95 y SEQ ID NO: 97.
18. El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-3, 7,
 9, 10, 12, 13 y 17, que comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) y una región variable de la cadena
 40 pesada (HCVR), en el que dicha LCVR comprende la SEQ ID NO: 94 y dicha HCVR comprende la SEQ ID NO: 96.
19. El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-6, 8,
 9, 11, 12 y 14-17, que comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) y una región variable de la cadena
 pesada (HCVR), en el que dicha LCVR comprende la SEQ ID NO: 95 y dicha HCVR comprende la SEQ ID NO: 97.
20. El anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-19,
 45 en el que dicha LCVR y dicha HCVR comprenden las secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que
 consiste en:
- a) LCVR es la SEQ ID NO: 1 y HCVR es la SEQ ID NO: 13;
 b) LCVR es la SEQ ID NO: 2 y HCVR es la SEQ ID NO: 14;
 c) LCVR es la SEQ ID NO: 3 y HCVR es la SEQ ID NO: 15;
 50 d) LCVR es la SEQ ID NO: 4 y HCVR es la SEQ ID NO: 16;
 e) LCVR es la SEQ ID NO: 5 y HCVR es la SEQ ID NO: 17; y
 f) LCVR es la SEQ ID NO: 6 y HCVR es la SEQ ID NO: 18.
21. El anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-3, 7,
 9, 10, 12, 13, 17, 18 y 20, en el que dicha LCVR y dicha HCVR, respectivamente, comprenden las secuencias de
 55 aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en:

- a) LCVR es la SEQ ID NO: 1 y HCVR es la SEQ ID NO: 13;
 b) LCVR es la SEQ ID NO: 2 y HCVR es la SEQ ID NO: 14; y
 c) LCVR es la SEQ ID NO: 3 y HCVR es la SEQ ID NO: 15.
- 5 22. El anticuerpo monoclonal precedente o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-6, 8, 9, 11, 12, 14-17, 19 y 20, en el que dicha LCVR y dicha HCVR comprenden las secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en:
- a) LCVR es la SEQ ID NO: 4 y HCVR es la SEQ ID NO: 16;
 b) LCVR es la SEQ ID NO: 5 y HCVR es la SEQ ID NO: 17; y
 c) LCVR es la SEQ ID NO: 6 y HCVR es la SEQ ID NO: 18.
- 10 23. El anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-3, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20 y 22, en el que dicha LCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y dicha HCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16.
- 15 24. El anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-6, 9, 11, 12, 14, 16, 17, 19, 20 y 22, en el que dicha LCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y dicha HCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17.
- 20 25. El anticuerpo monoclonal de una cualquiera de las cláusulas 1-24, en el que dicho anticuerpo comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera y la cadena pesada comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en:
- a) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 25 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 37;
 b) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 26 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 38;
 g) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 27 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 39;
 h) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 28 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 40;
 i) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 41; y
 j) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 30 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 42.
- 25 26. El anticuerpo monoclonal de una cualquiera de las cláusulas 1-3, 7, 9, 10, 12, 13, 17, 18, 20, 21 y 25, en el que dicho anticuerpo comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena pesada y la cadena ligera comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en:
- a) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 25 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 37,
 b) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 26 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 38, y
 30 d) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 27 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 39.
27. El anticuerpo monoclonal de una cualquiera de las cláusulas 1-6, 8, 9, 11, 12, 14-17, 19, 20 y 22-25, en el que dicho anticuerpo comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la cadena ligera y la cadena pesada comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en:
- a) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 28 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 40;
 35 b) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 29 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 41; y
 c) la cadena ligera es la SEQ ID NO: 30 y la cadena pesada es la SEQ ID NO: 42.
28. El anticuerpo monoclonal de una cualquiera de las cláusulas 1-3, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 22, 23, 25 y 27, en el que dicha cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y dicha cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40.
- 40 29. El anticuerpo monoclonal de una cualquiera de las cláusulas 1-6, 9, 11, 12, 14, 16, 17, 19, 20, 22, 24, 25 y 27, en el que dicha cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y dicha cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.
- 45 30. El anticuerpo monoclonal de una cualquiera de las cláusulas 1-3, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 22, 23, 25, 27 y 28, en el que dicho anticuerpo comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en las que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40.
31. El anticuerpo monoclonal de una cualquiera de las cláusulas 1-6, 9, 11, 12, 14, 16, 17, 19, 20, 22, 24, 25, 27 y 29, en el que dicho anticuerpo comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41.
- 50 32. Un anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, que compite con el anticuerpo monoclonal contra c-Met o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las cláusulas 1-31.

33. Un anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une al mismo epítipo de c-Met que el anticuerpo monoclonal contra c-Met o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las cláusulas 1-32.

5 34. Una composición farmacéutica, que comprende el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las cláusulas 1-33, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

35. Un anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-34 para su uso en terapia.

36. Un anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las cláusulas 1-35 para su uso en el tratamiento de un cáncer en un ser humano.

10 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Eli Lilly and Company

<120> Anticuerpos contra c-Met

15 <130> X-18217

<150> 61/116825

<151> 21-11-2008

20 <150> 61/219903

<151> 24-06-2009

<160> 97

25 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 108

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

35 <400> 1

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

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

Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Thr Ser Tyr Leu Ala Ser 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 Trp Ser Ser Tyr Pro
85 90 95

Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

ES 2 663 825 T3

5 <210> 2
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

10 <400> 2

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

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

Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Thr Ser Tyr Leu Ala Ser 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 Trp Ser Ser Tyr Pro
 85 90 95

Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

15 <210> 3
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 3

ES 2 663 825 T3

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

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

Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Thr Ser Arg Leu Arg Ser 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 Trp Ser Ser Tyr Pro
 85 90 95

Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

5 <210> 4
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 4

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile
 20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ile Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro
 85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

15 <210> 5

ES 2 663 825 T3

<211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 5

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile
 20 25 30

10 Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80

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

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

15 <210> 6
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

20 <400> 6

ES 2 663 825 T3

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Arg Ser Ile
 20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80

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

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

5 <210> 7
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 7

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gtgtcagctc aagtataagt tccaccaact tacactggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcacatcct atctggcttc tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtggt gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgtt ttactgtcaa cagtggagta gttaccogta cagtttcggc 300
 caagggacca agttggagat caaa 324

15 <210> 8
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 8

ES 2 663 825 T3

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gtgtcagctc aagtataagt tccaccaact tacactggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcacatcct acctggcttc tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcaa cagtggagta gttaccogta cagtttcggc 300
 caagggacca agttggagat caaa 324

5 <210> 9
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 9

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gtgtcagctc aagtataagt tccaccaact tacactggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcacatcca gactgagatc tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcaa cagtggagta gttaccogta cagtttcggc 300
 caagggacca agttggagat caaa 324

15 <210> 10
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 10

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgca gtgtcagctc aagtgtaagt tccatttact tgcactggta tcagcagaaa 120
 ccagggaaag cccctaagct cctgatctat agcacatcca acctggcttc tggagtccca 180
 tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa 240
 cctgaagatt ttgcaactta ctactgtatt cagtacagtg gttaccogct cacgttcggc 300
 ggagggacca aggtggagat caaa 324

25 <210> 11
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Construcción sintética

ES 2 663 825 T3

<400> 11

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
atcacttgca gtgtcagctc aagtgttaagt tccatttact tgcactggta tcagcagaaa	120
ccagggaaag cccctaagct cctgatctat agcacatcca acttggcttc tggagtccca	180
tcaaggttca gtggcagtg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa	240
cctgaagatt ttgcaactta ctactgtcag gtgtacagtg gttaccgct cacgttcggc	300
ggagggacca aggtggagat caaa	324

5

<210> 12

<211> 324

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 12

15

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
atcacttgca gtgtcagctc aagtgtacgt tccatttact tgcactggta tcagcagaaa	120
ccagggaaag cccctaagct cctgatctat agcacatcca acttggcttc tggagtccca	180
tcaaggttca gtggcagtg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa	240
cctgaagatt ttgcaactta ctactgtcag gtgtacaggg gttaccgct cacgttcggc	300
ggagggacca aggtggagat caaa	324

20

<210> 13

<211> 115

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

25

<400> 13

ES 2 663 825 T3

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Gly Tyr Gly Ala Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser
115

<210> 14
<211> 115
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> Construcción sintética

10

<400> 14

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

ES 2 663 825 T3

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

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

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

Ala Arg Gly Tyr Gly Ala Phe Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

Thr Val Ser
 115

<210> 15
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

10

<400> 15

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Val Thr Gly Asp Thr Tyr Tyr Arg Glu Pro Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Tyr Gly Ala Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

Thr Val Ser
 115

15

ES 2 663 825 T3

<210> 16
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

10

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

<210> 17
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 17

ES 2 663 825 T3

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

5 <210> 18
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 18

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

15 <210> 19
 <211> 345
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

ES 2 663 825 T3

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 19

5

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc      60
tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca agtaggtata tacactgggt gcgacaggcc      120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atttatcctg taactgggtga tacttactac      180
aacgagaagt tcaagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggctac      300
ggagcttttt actactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tctcc                          345
    
```

<210> 20
<211> 345
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Construcción sintética

15

<400> 20

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc      60
tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca agtaggtata tacactgggt gcgacaggcc      120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atttatcctg taactgggtga tacttactac      180
atcgagaagt tcaagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggctat      300
ggtgcttttt tctactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tctcc                          345
    
```

20

<210> 21
<211> 345
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

25

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 21

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc      60
tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca agtaggtata tacactgggt gcgacaggcc      120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atttatcctg taactgggtga tacttactac      180
agagagcctt tcaagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggctat      300
ggggcttttt actactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tctcc                          345
    
```

30

<210> 22
<211> 342
<212> ADN

ES 2 663 825 T3

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 5 <400> 22

 caggttcagc tgggtgcagtc tgggtgctgag gtgaagaagc ctggtgcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc gactactaca tgcactgggt gcgtcaggcc 120
 cctgggtcaag gtcttgagtg gatgggtcgt gttaatccta accgggggtg tactacctac 180
 aaccagaaat tcgagggccg tgtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
 atggagctgc gtagcctgcg ttctgacgac acggccgtgt attactgtgc gcgtacgaac 300
 tggcttgact actggggcca gggcaccacc gtcaccgtct cc 342

 10 <210> 23
 <211> 342
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 23

 caggttcagc tgggtgcagtc tgggtgctgag gtgaagaagc ctggtgcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc gactactaca tgcactgggt gcgtcaggcc 120
 cctgggtcaag gtcttgagtg gatgggtcgt gttaatccta accggagggg tactacctac 180
 aaccagaaat tcgagggccg tgtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
 atggagctgc gtagcctgcg ttctgacgac acggccgtgt attactgtgc gcgtgcgaac 300
 tggcttgact actggggcca gggcaccacc gtcaccgtct cc 342

 20

 <210> 24
 <211> 342
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 30 <400> 24

 caggttcagc tgggtgcagtc tgggtgctgag gtgaagaagc ctggtgcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctgggta cacattcact gactactaca tgcactgggt gcgtcaggcc 120
 cctgggtcaag gtcttgagtg gatgggtcgt gttaatcctt atcggggtag tactacctac 180
 aaccagaaat tcgagggccg tgtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
 atggagctgc gtagcctgcg ttctgacgac acggccgtgt attactgtgc gcgtgcgaac 300
 attcttgact actggggcca gggcaccacc gtcaccgtct cc 342

ES 2 663 825 T3

<210> 25
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

10

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

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

Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Thr Ser Tyr Leu Ala Ser 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 Trp Ser Ser Tyr Pro
 85 90 95

Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 26
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

ES 2 663 825 T3

<220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 26

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

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

Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Thr Ser Tyr Leu Ala Ser 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 Trp Ser Ser Tyr Pro
 85 90 95

Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

5

<210> 27
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Construcción sintética

15

<400> 27

ES 2 663 825 T3

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

<210> 28
 <211> 215

ES 2 663 825 T3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Construcción sintética

<400> 28

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile
20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ile Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro
85 90 95

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

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

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

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

ES 2 663 825 T3

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 29
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 29

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile
 20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80

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

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

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

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

5

10

ES 2 663 825 T3

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 30
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 30

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Arg Ser Ile
20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

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

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

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

ES 2 663 825 T3

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 31
 <211> 645
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 31

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gtgtcagctc aagtataagt tccaccaact tacactggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcacatcct acctggcttc tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gaactcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcaa cagtggagta gttaccgta cagtttcggc 300
 caagggacca agttggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtcct catcttcccg 360
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcoctgct gaataacttc 420
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctocaatc gggtaactcc 480
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 600
 ggctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc 645

<210> 32
 <211> 645
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

ES 2 663 825 T3

<400> 32

```

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc      60
ctctcctgca gtgtcagctc aagtataagt tccaccaact tacactggta ccagcagaaa      120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcacatcct acctggcttc tggcatccca      180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag      240
octgaagatt ttgcagtgta ttactgtcaa cagtggagta gttaccogta cagtttcggc      300
caagggacca agttggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg      360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc      420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggtactcc      480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg      540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg octgogaagt caccatcag      600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc      645
    
```

5 <210> 33
 <211> 645
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 33

```

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc      60
ctctcctgca gtgtcagctc aagtataagt tccaccaact tacactggta ccagcagaaa      120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcacatcca gactgagatc tggcatccca      180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag      240
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcaa cagtggagta gttaccogta cagtttcggc      300
caagggacca agttggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg      360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc      420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggtactcc      480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg      540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgogaagt caccatcag      600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc      645
    
```

15 <210> 34
 <211> 645
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética

25 <400> 34

ES 2 663 825 T3

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgca gtgtcagctc aagtgtaatc tccatttact tgcaactgga tcagcagaaa 120
 ccagggaaag cccctaagct cctgatctat agcacatcca acttggcttc tggagtccca 180
 tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa 240
 cctgaagatt ttgcaactta ctactgtatt cagtacagtg gttaccogct cacgctcggc 300
 ggagggacca aggtggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctggtg tgtgcctgct gaataacttc 420
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctcg 540
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 600
 ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc 645

<210> 35
 <211> 645
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética

5

10

<400> 35

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgca gtgtcagctc aagtgtatcc tccatttact tgcaactgga tcagcagaaa 120
 ccagggaaag cccctaagct cctgatctat agcacatcca acttggcttc tggagtccca 180
 tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa 240
 cctgaagatt ttgcaactta ctactgtcaa gtctacagtg gttaccogct cacgctcggc 300
 ggagggacca aggtggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctggtg tgtgcctgct gaataacttc 420
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctcg 540
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 600
 ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc 645

<210> 36
 <211> 645
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 36

ES 2 663 825 T3

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgca gtgtcagctc aagtgtacgt tccatttact tgcactggta tcagcagaaa 120
ccagggaaag ccctaagct cctgatctat agcacatcca acttggttc tggagtccca 180
tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gatttctctc tcaccatcag cagtctgcaa 240
cctgaagatt ttgcaactta ctactgtcag gtgtacaggg gttaccogct cacgttcggc 300
ggagggacca aggtggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggtactcc 480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctcg 540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc 645

<210> 37
<211> 441
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Construcción sintética

5

10

<400> 37

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

ES 2 663 825 T3

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

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe
 180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205

Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro
 210 215 220

Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
 260 265 270

Tyr Val Asp Gly Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
 290 295 300

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 305 310 315 320

Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
 325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 340 345 350

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

ES 2 663 825 T3

355

360

365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440

<210> 38
<211> 441
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 38

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Gly Tyr Gly Ala Phe Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

ES 2 663 825 T3

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe
 180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205

Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro
 210 215 220

Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
 260 265 270

Tyr Val Asp Gly Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
 290 295 300

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 305 310 315 320

Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
 325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

ES 2 663 825 T3

370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440

<210> 39
<211> 441
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> Construcción sintética

10

<400> 39

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Val Thr Gly Asp Thr Tyr Tyr Arg Glu Pro Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Tyr Gly Ala Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

ES 2 663 825 T3

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe
 180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205

Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro
 210 215 220

Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
 260 265 270

Tyr Val Asp Gly Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
 290 295 300

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 305 310 315 320

Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
 325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

ES 2 663 825 T3

385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440

5
 <210> 40
 <211> 440
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10
 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 40

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Arg Val Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Asn Trp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 100 105 110

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

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
 130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
 145 150 155 160

ES 2 663 825 T3

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
 165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly
 180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
 195 200 205

Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys
 210 215 220

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 225 230 235 240

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
 260 265 270

Val Asp Gly Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 275 280 285

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
 290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 305 310 315 320

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
 325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 385 390 395 400

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

ES 2 663 825 T3

405

410

415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440

5 <210> 41
 <211> 440
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 41

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Arg Val Asn Pro Asn Arg Arg Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Ala Asn Trp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 100 105 110

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

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
 130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
 145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
 165 170 175

ES 2 663 825 T3

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

ES 2 663 825 T3

420

425

430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440

<210> 42
<211> 440
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 42

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Val Asn Pro Tyr Arg Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ala Asn Ile Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110

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

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly
180 185 190

ES 2 663 825 T3

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
 195 200 205

Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys
 210 215 220

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 225 230 235 240

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
 260 265 270

Val Asp Gly Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 275 280 285

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
 290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 305 310 315 320

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
 325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440

ES 2 663 825 T3

<210> 43
 <211> 1323
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 43

10

```

caggtgcagc tggcgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc      60
tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca agtaggtata tacactgggt gcgacaggcc      120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atttatcctg taactggtga tacttactac      180
aacgagaagt tcaagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggctat      300
ggggcttttt actactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tctcctccgc ctccaccaag      360
ggcccatcgg tcttcccgt agcgcctcgc tccaggagca cctccgagag cacagccgcc      420
ctgggctgcc tggcgaagga ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgctgt gaactcaggc      480
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc      540
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc aacttcggca cccagaccta cacctgcaac      600
gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagacag ttgagcggaa atgttggtgc      660
gagtgcccac cgtgcccagc accacctgtg gcaggaccgt cagtcttctt cttcccccca      720
aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacgtgcgt ggtggtggac      780
gtgagccacg aagaccccga ggtccagttc aactggtacg tggacggcat ggaggtgcat      840
aatgccaaga caaagccacg ggaggagcag ttcaacagca cgttccgtgt ggtcagcgtc      900
ctcaccgtcg tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac      960
aaaggcctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaaa ccaaagggca gccccgagaa     1020
ccacagtggt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg     1080
acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg     1140
cagccggaga acaactaaa gaccacacct cccatgctgg actccgacgg ctccctcttc     1200
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc     1260
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctccg     1320
ggt                                                                                   1323
    
```

<210> 44
 <211> 1323
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 44

20

ES 2 663 825 T3

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
 tcttgcaagg cttctggcta caccttcaca agtaggtata tacactgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atttatcctg taactggtga tacttactac 180
 atcgagaagt tcaagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggctat 300
 ggtgcttttt tctactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tctcctccgc ctccaccaag 360
 ggcccatcgg tcttcccgtc agcgcctgc tccaggagca cctccgagag cacagccgcc 420
 ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccgggta cgggtgctgt gaactcaggc 480
 gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540
 ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc aacttcggca cccagaccta cacctgcaac 600
 gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagacag ttgagcgsaa atgttggtc 660
 gagtgccac cgtgccagc accacctgtg gcaggaccgt cagtcttct cttccccca 720
 aaaccaagg acaccctcat gatctccgg acccctgagg tcacgtgct ggtggtggac 780
 gtgagccacg aagacccga ggtccagttc aactggtacg tggacggcat ggaggtgcat 840
 aatgccaaga caaagccacg ggaggagcag ttcaacagca cgttccgtgt ggtcagcgtc 900
 ctcaccgtcg tgcaaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgsaa ggtctccaac 960
 aaaggcctcc cagccccat cgagaaaacc atctccaaaa ccaaaggca gccccgagaa 1020
 ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1080
 acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1140
 cagccggaga acaactacaa gaccacacct cccatgctgg actccgacgg ctcttcttc 1200
 ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1260
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctccg 1320
 ggt 1323

5 <210> 45
 <211> 1323
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 45

ES 2 663 825 T3

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
 tcttgcgaag cttctggcta caccttcaca agtaggtata tacactgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atttatctg taactggtga tacttactac 180
 agagagcctt tcaagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcogtgt attactgtgc gagaggctac 300
 ggagcttttt actactgggg ccagggcaac ctggtcaacc tctcctccgc ctccaaccaag 360
 ggcccatcgg tcttcccgct agcgcctgc tocaggagca cctccgagag cacagccgcc 420
 ctgggtgcc tggtaagga ctacttccc gaaccogtga cgggtcctg gaactcaggc 480
 gccctgacca gcggcgtgca caccttccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540
 ctgagcagcg tggtgaccgt gccctccagc aactcggca cccagacct cacctgcaac 600
 gtagatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagacag ttgagcgcaa atgttgtgtc 660
 gagtgcacc cgtgcccagc accacctgtg gcaggaccgt cagtcttct cttccccca 720
 aaacccaagg acaccctcat gatctccgg acccctgagg tcacgtcgt ggtggtggac 780
 gtgagccacg aagaccccga ggtccagttc aactggtacg tggacggcat ggaggtgcat 840
 aatgccaaaga caaagccacg ggaggagcag ttcaacagca cgttccgtgt ggtcagcgtc 900
 ctaccgtcg tgcaccagga ctggtgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 960
 aaaggcctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaa ccaaaggga gccccgagaa 1020
 ccacaggtgt acaccctgcc cccatccgg gaggatga ccaagaacca ggtcagcctg 1080
 acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatgccg tggagtggga gagcaatggg 1140
 cagccggaga acaactaaa gaccacact cccatgctgg actccgacgg ctctctcttc 1200
 ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1260
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctccg 1320
 ggt 1323

5 <210> 46
 <211> 1323
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 46

ES 2 663 825 T3

caggttcagc tgggtgcagtc tgggtgctgag gtgaagaagc ctggtgcctc agtgaaggtc 60
 tctgcaagc cttctgggta caccttacc gactactaca tgcactgggt gcgtcaggcc 120
 cctggtcaag gtcttgagtg gatgggtcgt gttaatccta accggggtgg tactacctac 180
 aaccagaaat tcgagggccg tgtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
 atggagctgc gtagcctgcg ttctgacgac acggcogtgt attactgtgc gcgtacgaac 300
 tggcttgact actggggcca gggcaccacc gtcaccgtct cctccgcctc caccaagggc 360
 ccatcggtct tcccctagc gccctgctcc aggagcacct ccgagagcac agccgcctg 420
 ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctgagcgcc 480
 ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 540
 agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaaga agacctaac ctgcaacgta 600
 gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agtccaaata tggccccca 660
 tgcccaccct gcccagcacc tgaggccgcc gggggaccat cagtcttctt gttccccca 720
 aaacccaagg aactctcat gatctcccgg acccctgagg tcacgtgcgt ggtggtggac 780
 gtgagccagg aagacccga ggtccagttc aactggtacg tggatggcgt ggaggtgcat 840
 aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 900
 ctaccgtcc tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 960
 aaaggcctcc cgtcctccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagag 1020
 ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1080
 acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga aagcaatggg 1140
 cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc 1200
 ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc 1260
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctctg 1320
 ggt 1323

5

<210> 47
 <211> 1323
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 47

ES 2 663 825 T3

caggttcagc tggcgcagtc tggcgtgag gtgaagaagc ctggtgcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctgggta cacattcact gactactaca tgcactgggt gcgtcaggcc 120
 cctggcgaag gtcttgagtg gatgggtcgt gttaatccta accggagggg tactacctac 180
 aaccagaaat tcgagggccg tgtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
 atggagctgc gtagcctgcg ttctgacgac acggccgtgt attactgtgc gcgtgcgaac 300
 tggcttgact actggggcca gggcaccacc gtcaccgtct cctccgcctc caccaagggc 360
 ccatcggtct tcccgttagc gccctgctcc aggagcacct ccgagagcac agccgccctg 420
 ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 480

 ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgct gtccctacagt cctcaggact ctactccctc 540
 agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcacga agacctacac ctgcaacgta 600
 gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agtccaaata tggcctccca 660
 tgcccaccct gccagcacc tgaggccgcc gggggaccat cagtcttctt gttcccccca 720
 aaacccaagg aactctctat gatctcccgg acccctgagg tcacgtgcgt ggtggtggac 780
 gtgagccagg aagaccccga ggtccagttc aactggtacg tggatggcgt ggaggtgcat 840
 aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 900
 ctaccgtcc tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 960
 aaaggcctcc cgtcctccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagag 1020
 ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1080
 acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatgcccg tggagtggga aagcaatggg 1140
 cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctcttctctc 1200
 ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc 1260
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctctg 1320
 ggt 1323

5 <210> 48
 <211> 1323
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 48

ES 2 663 825 T3

caggttcagc tgggtgcagtc tgggtgctgag gtgaagaagc ctggtgcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggtta cacattcact gactactaca tgcactgggt gcgtcaggcc 120
 cctggtaag gtcttgagtg gatgggtcgt gttaatcctt atcggggtag tactacctac 180
 aaccagaaat tgcagggccg tgtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
 atggagctgc gtagcctgcg ttctgacgac acggcctgtt attactgtgc gcgtgcgaac 300
 attcttgact actggggcca gggcaaccacc gtcaccgtct cctccgcctc caccaagggc 360
 ccatcggtct tcccgttagc gccctgctcc aggagcacct ccgagagcac agccgccctg 420
 ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgcctggaa ctcaggcgcc 480
 ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 540
 agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggacaga agacctacac ctgcaacgta 600
 gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agtccaaata tggtocccca 660
 tgcccaccct gccagcacc tgaggccgcc gggggaccat cagtcttctt gttcccccca 720
 aaaccaagg acaactctcat gatctcccgg acccctgagg tcacgtgcgt ggtggtggac 780
 gtgagccagg aagaccccga ggtccagttc aactggtacg tggatggcgt ggaggtgcat 840
 aatgccaaaga caaagcccg ggagagcag ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 900
 ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 960
 aaagcctcc cgtcctocat cgagaaaacc atctocaaag ccaaagggca gccccgagag 1020
 ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1080
 acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga aagcaatggg 1140
 cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctcttctctc 1200
 ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc 1260
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctctg 1320
 ggt 1323

5 <210> 49
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 49

Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Thr Asn Leu His
 1 5 10

15 <210> 50
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 50

ES 2 663 825 T3

Gly Thr Ser Tyr Leu Ala Ser
1 5

5 <210> 51
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 51

Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Tyr Ser

1 5

15 <210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 52

Gly Thr Ser Arg Leu Arg Ser
1 5

25 <210> 53
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 53

Ser Val Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile Tyr Leu His
1 5 10

40 <210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 54

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

50 <210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

5 <400> 55

Ile Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro Leu Thr
 1 5

10 <210> 56
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 56

Gln Val Tyr Ser Gly Tyr Pro Leu Thr
 1 5

20 <210> 57
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 57

30 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 57

Ser Val Ser Ser Ser Val Arg Ser Ile Tyr Leu His
 1 5 10

35 <210> 58
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 58

Gln Val Tyr Arg Gly Tyr Pro Leu Thr
 1 5

45 <210> 59
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 59

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Arg Tyr Ile His
 1 5 10

55

ES 2 663 825 T3

5 <210> 60
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 60

Trp Ile Tyr Pro Val Thr Gly Asp Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

15 <210> 61
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 61

Gly Tyr Gly Ala Phe Tyr Tyr

1 5

25 <210> 62
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 62

Trp Ile Tyr Pro Val Thr Gly Asp Thr Tyr Tyr Ile Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

35 Gly

40 <210> 63
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

45 <400> 63

Gly Tyr Gly Ala Phe Phe Tyr

1 5

50 <210> 64
<211> 17

ES 2 663 825 T3

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5
<220>
<223> Construcción sintética

<400> 64

Trp Ile Tyr Pro Val Thr Gly Asp Thr Tyr Tyr Arg Glu Pro Phe Lys
1 5 10 15

Gly

10
<210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15
<220>
<223> Construcción sintética

20
<400> 65

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His
1 5 10

25
<210> 66
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Construcción sintética

30
<400> 66

Arg Val Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Glu
1 5 10 15

Gly

35
<210> 67
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40
<220>
<223> Construcción sintética

<400> 67

Thr Asn Trp Leu Asp Tyr
1 5

45
<210> 68
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50
<220>

ES 2 663 825 T3

<223> Construcción sintética

<400> 68

Arg Val Asn Pro Asn Arg Arg Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Glu
1 5 10 15

5

Gly

<210> 69

<211> 6

<212> PRT

10

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 69

Ala Asn Trp Leu Asp Tyr
1 5

20

<210> 70

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 70

Arg Val Asn Pro Tyr Arg Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Glu
1 5 10 15

30

Gly

<210> 71

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Construcción sintética

40

<400> 71

Ala Asn Ile Leu Asp Tyr
1 5

45

<210> 72

<211> 1192

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 72

Met Lys Ala Pro Ala Val Leu Ala Pro Gly Ile Leu Val Leu Leu Phe

ES 2 663 825 T3

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

ES 2 663 825 T3

Asn Phe Ile Tyr Phe Leu Thr Val Gln Arg Glu Thr Leu Asp Ala Gln
 260 265 270

Thr Phe His Thr Arg Ile Ile Arg Phe Cys Ser Ile Asn Ser Gly Leu
 275 280 285

His Ser Tyr Met Glu Met Pro Leu Glu Cys Ile Leu Thr Glu Lys Arg
 290 295 300

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

Tyr Val Ser Lys Pro Gly Ala Gln Leu Ala Arg Gln Ile Gly Ala Ser
 325 330 335

Leu Asn Asp Asp Ile Leu Phe Gly Val Phe Ala Gln Ser Lys Pro Asp
 340 345 350

Ser Ala Glu Pro Met Asp Arg Ser Ala Met Cys Ala Phe Pro Ile Lys
 355 360 365

Tyr Val Asn Asp Phe Phe Asn Lys Ile Val Asn Lys Asn Asn Val Arg
 370 375 380

Cys Leu Gln His Phe Tyr Gly Pro Asn His Glu His Cys Phe Asn Arg
 385 390 395 400

Thr Leu Leu Arg Asn Ser Ser Gly Cys Glu Ala Arg Arg Asp Glu Tyr
 405 410 415

Arg Thr Glu Phe Thr Thr Ala Leu Gln Arg Val Asp Leu Phe Met Gly
 420 425 430

Gln Phe Ser Glu Val Leu Leu Thr Ser Ile Ser Thr Phe Ile Lys Gly
 435 440 445

Asp Leu Thr Ile Ala Asn Leu Gly Thr Ser Glu Gly Arg Phe Met Gln
 450 455 460

Val Val Val Ser Arg Ser Gly Pro Ser Thr Pro His Val Asn Phe Leu
 465 470 475 480

Leu Asp Ser His Pro Val Ser Pro Glu Val Ile Val Glu His Thr Leu
 485 490 495

Asn Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Val Ile Thr Gly Lys Lys Ile Thr Lys
 500 505 510

ES 2 663 825 T3

Ile Pro Leu Asn Gly Leu Gly Cys Arg His Phe Gln Ser Cys Ser Gln
515 520 525

Cys Leu Ser Ala Pro Pro Phe Val Gln Cys Gly Trp Cys His Asp Lys
530 535 540

Cys Val Arg Ser Glu Glu Cys Leu Ser Gly Thr Trp Thr Gln Gln Ile
545 550 555 560

Cys Leu Pro Ala Ile Tyr Lys Val Phe Pro Asn Ser Ala Pro Leu Glu
565 570 575

Gly Gly Thr Arg Leu Thr Ile Cys Gly Trp Asp Phe Gly Phe Arg Arg
580 585 590

Asn Asn Lys Phe Asp Leu Lys Lys Thr Arg Val Leu Leu Gly Asn Glu
595 600 605

Ser Cys Thr Leu Thr Leu Ser Glu Ser Thr Met Asn Thr Leu Lys Cys
610 615 620

Thr Val Gly Pro Ala Met Asn Lys His Phe Asn Met Ser Ile Ile Ile
625 630 635 640

Ser Asn Gly His Gly Thr Thr Gln Tyr Ser Thr Phe Ser Tyr Val Asp
645 650 655

Pro Val Ile Thr Ser Ile Ser Pro Lys Tyr Gly Pro Met Ala Gly Gly
660 665 670

Thr Leu Leu Thr Leu Thr Gly Asn Tyr Leu Asn Ser Gly Asn Ser Arg
675 680 685

His Ile Ser Ile Gly Gly Lys Thr Cys Thr Leu Lys Ser Val Ser Asn
690 695 700

Ser Ile Leu Glu Cys Tyr Thr Pro Ala Gln Thr Ile Ser Thr Glu Phe
705 710 715 720

Ala Val Lys Leu Lys Ile Asp Leu Ala Asn Arg Glu Thr Ser Ile Phe
725 730 735

Ser Tyr Arg Glu Asp Pro Ile Val Tyr Glu Ile His Pro Thr Lys Ser
740 745 750

Phe Ile Ser Gly Gly Ser Thr Ile Thr Gly Val Gly Lys Asn Leu Asn
755 760 765

ES 2 663 825 T3

Ser Val Ser Val Pro Arg Met Val Ile Asn Val His Glu Ala Gly Arg
770 775 780

Asn Phe Thr Val Ala Cys Gln His Arg Ser Asn Ser Glu Ile Ile Cys
785 790 795 800

Cys Thr Thr Pro Ser Leu Gln Gln Leu Asn Leu Gln Leu Pro Leu Lys
805 810 815

Thr Lys Ala Phe Phe Met Leu Asp Gly Ile Leu Ser Lys Tyr Phe Asp
820 825 830

Leu Ile Tyr Val His Asn Pro Val Phe Lys Pro Phe Glu Lys Pro Val
835 840 845

Met Ile Ser Met Gly Asn Glu Asn Val Leu Glu Ile Lys Gly Asn Asp
850 855 860

Ile Asp Pro Glu Ala Val Lys Gly Glu Val Leu Lys Val Gly Asn Lys
865 870 875 880

Ser Cys Glu Asn Ile His Leu His Ser Glu Ala Val Leu Cys Thr Val
885 890 895

Pro Asn Asp Leu Leu Lys Leu Asn Ser Glu Leu Asn Ile Glu Trp Lys
900 905 910

Gln Ala Ile Ser Ser Thr Val Leu Gly Lys Val Ile Val Gln Pro Asp
915 920 925

Gln Asn Phe Thr Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Asp Ile Glu Pro
930 935 940

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
945 950 955 960

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
965 970 975

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
980 985 990

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
995 1000 1005

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

ES 2 663 825 T3

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

<210> 73
 <211> 1192
 <212> PRT
 <213> *Macaca mulatta*

<400> 73

Met Lys Ala Pro Ala Val Leu Val Pro Gly Ile Leu Val Leu Leu Phe
 1 5 10 15

Thr Leu Val Gln Arg Ser Asn Gly Glu Cys Lys Glu Ala Leu Ala Lys

ES 2 663 825 T3

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

ES 2 663 825 T3

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

ES 2 663 825 T3

Cys Leu Ser Ala Pro Pro Phe Val Gln Cys Gly Trp Cys His Asp Lys
 530 535 540

Cys Val Arg Ser Glu Glu Cys Pro Ser Gly Thr Trp Thr Gln Gln Ile
 545 550 555 560

Cys Leu Pro Ala Ile Tyr Lys Val Phe Pro Thr Ser Ala Pro Leu Glu
 565 570 575

Gly Gly Thr Arg Leu Thr Ile Cys Gly Trp Asp Phe Gly Phe Arg Arg
 580 585 590

Asn Asn Lys Phe Asp Leu Lys Lys Thr Arg Val Leu Leu Gly Asn Glu
 595 600 605

Ser Cys Thr Leu Thr Leu Ser Glu Ser Thr Met Asn Thr Leu Lys Cys
 610 615 620

Thr Val Gly Pro Ala Met Asn Lys His Phe Asn Met Ser Ile Ile Ile
 625 630 635 640

Ser Asn Gly His Gly Thr Thr Gln Tyr Ser Thr Phe Ser Tyr Val Asp
 645 650 655

Pro Ile Ile Thr Ser Ile Ser Pro Lys Tyr Gly Pro Met Ala Gly Gly
 660 665 670

Thr Leu Leu Thr Leu Thr Gly Asn Tyr Leu Asn Ser Gly Asn Ser Arg
 675 680 685

His Ile Ser Ile Gly Gly Lys Thr Cys Thr Leu Lys Ser Val Ser Asn
 690 695 700

Ser Ile Leu Glu Cys Tyr Thr Pro Ala Gln Thr Ile Ser Thr Glu Phe
 705 710 715 720

Ala Val Lys Leu Lys Ile Asp Leu Ala Asn Arg Glu Thr Ser Ile Phe
 725 730 735

Ser Tyr Arg Glu Asp Pro Ile Val Tyr Glu Ile His Pro Thr Lys Ser
 740 745 750

Phe Ile Ser Gly Gly Ser Thr Ile Thr Gly Val Gly Lys Asn Leu His
 755 760 765

Ser Val Ser Val Pro Arg Met Val Ile Asn Val His Glu Ala Gly Arg
 770 775 780

ES 2 663 825 T3

Asn Phe Thr Val Ala Cys Gln His Arg Ser Asn Ser Glu Ile Ile Cys
 785 790 795 800
 Cys Thr Thr Pro Ser Leu Gln Gln Leu Asn Leu Gln Leu Pro Leu Lys
 805 810 815
 Thr Lys Ala Phe Phe Met Leu Asp Gly Ile Leu Ser Lys Tyr Phe Asp
 820 825 830
 Leu Ile Tyr Val His Asn Pro Val Phe Lys Pro Phe Glu Lys Pro Val
 835 840 845
 Met Ile Ser Met Gly Asn Glu Asn Val Leu Glu Ile Lys Gly Asn Asp
 850 855 860
 Ile Asp Pro Glu Ala Val Lys Gly Glu Val Leu Lys Val Gly Asn Lys
 865 870 875 880
 Ser Cys Glu Asn Ile His Leu His Ser Glu Ala Val Leu Cys Thr Val
 885 890 895
 Pro Asn Asp Leu Leu Lys Leu Asn Ser Glu Leu Asn Ile Glu Trp Lys
 900 905 910
 Gln Ala Ile Ser Ser Thr Val Leu Gly Lys Val Ile Val Gln Pro Asp
 915 920 925
 Gln Asn Phe Thr Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Asp Ile Glu Pro
 930 935 940
 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 945 950 955 960
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 965 970 975
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 980 985 990
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 995 1000 1005
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 1010 1015 1020
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

ES 2 663 825 T3

1025		1030		1035
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys				
1040		1045		1050
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly				
1055		1060		1065
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Glu Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu				
1070		1075		1080
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly				
1085		1090		1095
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln				
1100		1105		1110
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp				
1115		1120		1125
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg				
1130		1135		1140
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala				
1145		1150		1155
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly				
1160		1165		1170
Lys Arg Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys His Val His His				
1175		1180		1185
His His His His				
1190				

<210> 74
 <211> 1194
 <212> PRT
 <213> *Rattus rattus*
 <400> 74

5

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

10

ES 2 663 825 T3

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

ES 2 663 825 T3

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

ES 2 663 825 T3

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

ES 2 663 825 T3

Cys Cys Thr Thr Pro Ser Leu Gln Gln Leu Asp Leu Gln Leu Pro Leu
 805 810 815

Lys Thr Lys Ala Phe Phe Leu Leu Asp Gly Ile Leu Ser Lys His Phe
 820 825 830

Asp Leu Thr Tyr Val His Asp Pro Met Phe Lys Pro Phe Glu Lys Pro
 835 840 845

Val Met Ile Ser Met Gly Asn Glu Asn Val Val Glu Ile Lys Gly Asp
 850 855 860

Asp Ile Asp Pro Glu Ala Val Lys Gly Glu Val Leu Lys Val Gly Asn
 865 870 875 880

Lys Ser Cys Glu Asn Leu His Trp His Ser Glu Ala Leu Leu Cys Thr
 885 890 895

Val Pro Ser Asp Leu Leu Lys Leu Asn Gly Gly Glu Leu Asn Ile Glu
 900 905 910

Trp Lys Gln Ala Val Ser Ser Thr Val Leu Gly Lys Val Ile Val Gln
 915 920 925

Pro Asp Gln Asn Phe Ala Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Asp Ile
 930 935 940

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 945 950 955 960

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 965 970 975

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 980 985 990

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 995 1000 1005

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 1010 1015 1020

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 1025 1030 1035

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

ES 2 663 825 T3

1040 1045 1050

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
1055 1060 1065

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Glu Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
1070 1075 1080

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
1085 1090 1095

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
1100 1105 1110

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
1115 1120 1125

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
1130 1135 1140

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
1145 1150 1155

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
1160 1165 1170

Pro Gly Lys Arg Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys His Val
1175 1180 1185

His His His His His His
1190

<210> 75
<211> 932
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 75

Met Lys Ala Pro Ala Val Leu Ala Pro Gly Ile Leu Val Leu Leu Phe
1 5 10 15

Thr Leu Val Gln Arg Ser Asn Gly Glu Cys Lys Glu Ala Leu Ala Lys
20 25 30

Ser Glu Met Asn Val Asn Met Lys Tyr Gln Leu Pro Asn Phe Thr Ala
35 40 45

Glu Thr Pro Ile Gln Asn Val Ile Leu His Glu His His Ile Phe Leu

ES 2 663 825 T3

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

ES 2 663 825 T3

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

ES 2 663 825 T3

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

ES 2 663 825 T3

Thr Lys Ala Phe Phe Met Leu Asp Gly Ile Leu Ser Lys Tyr Phe Asp
 820 825 830

Leu Ile Tyr Val His Asn Pro Val Phe Lys Pro Phe Glu Lys Pro Val
 835 840 845

Met Ile Ser Met Gly Asn Glu Asn Val Leu Glu Ile Lys Gly Asn Asp
 850 855 860

Ile Asp Pro Glu Ala Val Lys Gly Glu Val Leu Lys Val Gly Asn Lys
 865 870 875 880

Ser Cys Glu Asn Ile His Leu His Ser Glu Ala Val Leu Cys Thr Val
 885 890 895

Pro Asn Asp Leu Leu Lys Leu Asn Ser Glu Leu Asn Ile Glu Trp Lys
 900 905 910

Gln Ala Ile Ser Ser Thr Val Leu Gly Lys Val Ile Val Gln Pro Asp
 915 920 925

Gln Asn Phe Thr
 930

<210> 76
 <211> 578
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 76

Met Lys Ala Pro Ala Val Leu Ala Pro Gly Ile Leu Val Leu Leu Phe
 1 5 10 15

Thr Leu Val Gln Arg Ser Asn Gly Glu Cys Lys Glu Ala Leu Ala Lys
 20 25 30

Ser Glu Met Asn Val Asn Met Lys Tyr Gln Leu Pro Asn Phe Thr Ala
 35 40 45

Glu Thr Pro Ile Gln Asn Val Ile Leu His Glu His His Ile Phe Leu
 50 55 60

Gly Ala Thr Asn Tyr Ile Tyr Val Leu Asn Glu Glu Asp Leu Gln Lys
 65 70 75 80

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

10

ES 2 663 825 T3

Pro Cys Gln Asp Cys Ser Ser Lys Ala Asn Leu Ser Gly Gly Val Trp
100 105 110

Lys Asp Asn Ile Asn Met Ala Leu Val Val Asp Thr Tyr Tyr Asp Asp
115 120 125

Gln Leu Ile Ser Cys Gly Ser Val Asn Arg Gly Thr Cys Gln Arg His
130 135 140

Val Phe Pro His Asn His Thr Ala Asp Ile Gln Ser Glu Val His Cys
145 150 155 160

Ile Phe Ser Pro Gln Ile Glu Glu Pro Ser Gln Cys Pro Asp Cys Val
165 170 175

Val Ser Ala Leu Gly Ala Lys Val Leu Ser Ser Val Lys Asp Arg Phe
180 185 190

Ile Asn Phe Phe Val Gly Asn Thr Ile Asn Ser Ser Tyr Phe Pro Asp
195 200 205

His Pro Leu His Ser Ile Ser Val Arg Arg Leu Lys Glu Thr Lys Asp
210 215 220

Gly Phe Met Phe Leu Thr Asp Gln Ser Tyr Ile Asp Val Leu Pro Glu
225 230 235 240

Phe Arg Asp Ser Tyr Pro Ile Lys Tyr Val His Ala Phe Glu Ser Asn
245 250 255

Asn Phe Ile Tyr Phe Leu Thr Val Gln Arg Glu Thr Leu Asp Ala Gln
260 265 270

Thr Phe His Thr Arg Ile Ile Arg Phe Cys Ser Ile Asn Ser Gly Leu
275 280 285

His Ser Tyr Met Glu Met Pro Leu Glu Cys Ile Leu Thr Glu Lys Arg
290 295 300

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

Tyr Val Ser Lys Pro Gly Ala Gln Leu Ala Arg Gln Ile Gly Ala Ser
325 330 335

Leu Asn Asp Asp Ile Leu Phe Gly Val Phe Ala Gln Ser Lys Pro Asp

ES 2 663 825 T3

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

ES 2 663 825 T3

<210> 77
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 77

 Val Val Asp Thr Tyr Tyr Asp Asp Gln Leu
 1 5 10

 10
 <210> 78
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 15
 <400> 78

 Ile Ser Cys Gly Ser Val Asn Arg Gly Thr Cys Gln Arg His Val Phe
 1 5 10 15

 Pro His Asn His Thr Ala Asp Ile Gln
 20 25

 20
 <210> 79
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 25
 <400> 79

 Ala Leu Gly Ala Lys Val Leu Ser Ser Val Lys Asp Arg Phe Ile Asn
 1 5 10 15

 Phe Phe

 30
 <210> 80
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 80

 Val Arg Arg Leu Lys Glu Thr Lys Asp Gly Phe Met
 1 5 10

 35

 <210> 81
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 40
 <400> 81

 Asp Thr Tyr Tyr Asp Asp
 1 5

 45
 <210> 82
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 82

His Val Phe Pro His Asn His Thr Ala Asp Ile Gln Ser
 1 5 10

5 <210> 83
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 83

Phe Ile Asn Phe
 1

15 <210> 84
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 84

Lys Glu Thr Lys Asp Gly Phe Met
 1 5

25 <210> 85
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 85

Tyr Lys Thr Gly Pro Val Leu Glu His Pro Asp Cys Phe Pro Cys Gln
 1 5 10 15

Asp Cys Ser Ser Lys Ala Asn Leu
 20

30 <210> 86
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 86

Cys Phe Pro Cys Gln Asp Cys Ser Ser Lys Ala
 1 5 10

40 <210> 87
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Construcción sintética

50 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

ES 2 663 825 T3

<220>
<221 > misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
5
<400> 87

Gly Thr Ser Xaa Leu Xaa Ser
1 5

10
<210> 88
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15
<220>
<223> Construcción sintética

<220>
<221 > misc_feature
20
<222> (7)..(7)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
<400> 88

Ser Val Ser Ser Ser Val Xaa Ser Ile Tyr Leu His
1 5 10

25
<210> 89
<211> 9
<212> PRT
30
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

35
<220>
<221 > misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

40
<220>
<221 > misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

45
<400> 89

Xaa Xaa Tyr Xaa Gly Tyr Pro Leu Thr

1 5

50
<210> 90
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

55
<220>
<223> Construcción sintética

<220>
 <221 > misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
 5

<220>
 <221 > misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
 10

<400> 90

Trp Ile Tyr Pro Val Thr Gly Asp Thr Tyr Tyr Xaa Glu Xaa Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 91
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15

<220>
 <223> Construcción sintética
 20

<220>
 <221 > misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
 25

<400> 91

Gly Tyr Gly Ala Phe Xaa Tyr
1 5

<210> 92
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35

<220>
 <223> Construcción sintética
 40

<220>
 <221 > misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
 45

<220>
 <221 > misc_feature
 <222> (7)..(8)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
 50

<400> 92

Arg Val Asn Pro Xaa Arg Xaa Xaa Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Glu
1 5 10 15

Gly

5
 <210> 93
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

10
 <220>
 <221 > misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

15
 <220>
 <221 > misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

20
 <400> 93

Xaa Asn Xaa Leu Asp Tyr
1 5

25
 <210> 94
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30
 <220>
 <223> Construcción sintética

35
 <220>
 <221 > misc_feature
 <222> (54)..(54)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

40
 <220>
 <221 > misc_feature
 <222> (56)..(56)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 94

ES 2 663 825 T3

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

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

Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Thr Ser Xaa Leu Xaa Ser 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 Trp Ser Ser Tyr Pro
 85 90 95

Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 95
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

10

<220>
 <221 > misc_feature
 <222> (30)..(30)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

15

<220>
 <221 > misc_feature
 <222> (90)..(91)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

20

<220>
 <221 > misc_feature
 <222> (93)..(93)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

25

<400> 95

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Xaa Ser Ile
 20 25 30

ES 2 663 825 T3

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Xaa Xaa Tyr Xaa Gly Tyr Pro
 85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

- 5 <210> 96
- <211> 115
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> Construcción sintética
- <220>
- <221 > misc_feature
- <222> (61)..(61)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- 15 <220>
- <221 > misc_feature
- <222> (63)..(63)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- 20 <220>
- <221 > misc_feature
- <222> (104)..(104)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- 25 <400> 96

ES 2 663 825 T3

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Val Thr Gly Asp Thr Tyr Tyr Xaa Glu Xaa Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Tyr Gly Ala Phe Xaa Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

Thr Val Ser
 115

5 <210> 97
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

15 <220>
 <221 > misc_feature
 <222> (54)..(54)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

20 <220>
 <221 > misc_feature
 <222> (56)..(57)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

25 <220>
 <221 > misc_feature
 <222> (99)..(99)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

30 <220>
 <221 > misc_feature
 <222> (101)..(101)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 97

ES 2 663 825 T3

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Arg Val Asn Pro Xaa Arg Xaa Xaa Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Xaa Asn Xaa Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 100 105 110

Val Ser

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo monoclonal contra c-Met, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en el que LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLH (SEQ ID NO: 53), LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54), LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos QVYSGYPLT (SEQ ID NO: 56), HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65), HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRRGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 68) y HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos ANWLDY (SEQ ID NO: 69) para su uso en el tratamiento de los cánceres mediado por c-Met.
2. Un anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el gen de c-Met está sobreexpresado, amplificado y/o mutado.
3. Un anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el gen de c-Met está amplificado.
4. Un anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para su uso en el tratamiento de los cánceres de mama, hígado, cabeza y cuello, melanoma, cerebro, colorrectal, colón, gástrico, riñón, esofágico, próstata, pulmón, pulmón no microcítico (CPNM) y estómago.
5. Un anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que se une a un epítipo dentro de la cadena α de c-Met humano e induce la internalización de c-Met humano de superficie celular.
6. Un anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que induce la internalización independiente del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) de c-Met humano de superficie celular.
7. Un anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se une dentro de una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
- ¹²¹VVDYYDDQL₁₃₀ (SEQ ID NO: 77),
 - ¹³¹ISCGSVNRGTCQRHVFPHNHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO: 78),
 - ¹⁷⁹ALGAKVLSSVKDRFINF₁₉₅ (SEQ ID NO: 79), y
 - ²¹⁶VRRLLKTKDGF₂₂₇ (SEQ ID NO: 80).
8. El anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se une dentro de una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
- ¹²³DTYYDD₁₂₈ (SEQ ID NO: 81),
 - ¹⁴⁴HVFPHNHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO: 82),
 - ¹⁹²FINF₁₉₅ (SEQ ID NO: 83), y
 - ²²⁰KTKDGF₂₂₇ (SEQ ID NO: 84).
9. Un anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se une una secuencia de aminoácidos dentro del epítipo conformacional **caracterizado por** ¹²³DTYYDD₁₂₈ (SEQ ID NO: 81), ¹⁴⁴HVFPHNHTADIQS₁₅₆ (SEQ ID NO: 82), ¹⁹²FINF₁₉₅ (SEQ ID NO: 83) y ²²⁰KTKDGF₂₂₇ (SEQ ID NO: 84) inclusive.
10. Un anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) y una región variable de la cadena pesada (HCVR), en el que la LCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y la HCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17.
11. Un anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, que comprende una cadena ligera que tiene una región constante kappa y una cadena pesada que tiene una región constante de la cadena pesada de IgG4.
12. Un anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, que comprende una cadena ligera codificada por la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 35, y una cadena pesada codificada por la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 47.

13. Un anticuerpo monoclonal para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, que comprende dos cadenas ligeras codificadas por la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 35 y dos cadenas pesadas codificadas por la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 47.
- 5 14. Un anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que la secuencia de aminoácidos de dicha cadena ligera es idéntica a la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 35; y la secuencia de aminoácidos de dicha cadena pesada es idéntica a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 47.
- 10 15. Un anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, que comprende dos cadenas ligeras, en el que la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera es idéntica a la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 35; y dos cadenas pesadas, en el que la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada es idéntica a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 47.
- 15 16. Un anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y una cadena pesada que tiene una región constante de la cadena pesada de IgG4.
17. Un anticuerpo monoclonal para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, que comprende dos cadenas ligeras que tienen la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y dos cadenas pesadas que tienen una región constante de la cadena pesada de IgG4.
- 20 18. Una composición farmacéutica, que comprende el anticuerpo monoclonal, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 25 19. Un anticuerpo monoclonal contra c-Met, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (las LCDR) y tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (las HCDR), en el que LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos SVSSSVSSIYLN (SEQ ID NO: 53), LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos STSNLAS (SEQ ID NO: 54), LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos QVYSGYPLT (SEQ ID NO: 56), HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYMH (SEQ ID NO: 65), HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos RVNPNRRGTTYNQKFEG (SEQ ID NO: 68), y HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos ANWLDY (SEQ ID NO: 69), para su uso en el tratamiento de cáncer de hígado en un ser humano.
- 30