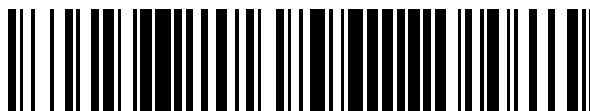


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 673 847**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.07.2013 PCT/US2013/051815**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.01.2014 WO14018625**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.07.2013 E 13745296 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.03.2018 EP 2877493**

54 Título: **Anticuerpos anti KIT y usos de los mismos**

30 Prioridad:

25.07.2012 US 201261675751 P

25.07.2012 US 201261675762 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.06.2018

73 Titular/es:

CELLEX THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
53 Frontage Road, Suite 200
Hampton, NJ 08827, US

72 Inventor/es:

HADARI, YARON;
MANDEL-BAUSCH, ELIZABETH, M.;
CARR, FRANCIS, JOSEPH;
JONES, TIMOTHY, DAVID y
PERRY, LAURA, CLARE ALEXANDRA

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 673 847 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 anti KIT y usos de los mismos

1. Campo

En la presente memoria se proporcionan anticuerpos que se unen específicamente con un polipéptido KIT, fragmentos de unión a antígeno de los mismos, conjugados de tales anticuerpos, polinucleótidos que codifican tales anticuerpos, vectores y células anfitrionas para producir tales anticuerpos, equipos de reactivos y composiciones farmacéuticas que comprenden anticuerpos que se unen inmuno-específicamente a un antígeno de KIT, usos y métodos para el tratamiento o la gestión de un trastorno asociado con KIT, y métodos de diagnóstico.

2. Antecedentes

KIT (o c-Kit) es un receptor tirosina quinasa de tipo III codificado por el gen *c-kit*. KIT comprende cinco dominios extracelulares tipo de inmunoglobulina (Ig), una sola región transmembranal, un dominio yuxtamembranal citoplasmático inhibitor y un dominio quinasa citoplasmático escindido separado por un segmento de insertos de quinasa (véanse, por ejemplo, Yarden et al., *Nature*, 1986, 323:226-232; Ullrich y Schlessinger, *Cell*, 1990, 61:203-212; Clifford et al., *J. Biol. Chem.*, 2003, 278:31461-31464). El gen *c-kit* humano que codifica el receptor KIT ha sido clonado según describen Yarden et al., *EMBO J.*, 1987, 6:3341-3351. KIT también es denominado CD117 o receptor del factor de células madre ("SCFR"), porque es el receptor para el ligando del factor de células madre ("SCF") (también denominado Factor de Steel o Ligando Kit). El ligando SCF que se une a los tres primeros dominios extracelulares de tipo Ig de KIT induce la dimerización del receptor y, por ello, activa la actividad intrínseca de la tirosina quinasa mediante la fosforilación de residuos específicos de tirosina en los dominios yuxtamembranal y quinasa (véanse, por ejemplo, Weiss y Schlessinger, *Cell*, 1998, 94:277-280; Clifford et al., *J. Biol. Chem.*, 2003, 278:31461-31464). Se ha demostrado que los miembros de los sistemas de señalización Stat, Src, ERK y AKT están aguas abajo de los transductores de señales de la señalización KIT.

Se cree que los dominios extracelulares de tipo Ig cuarto (D4) y quinto (D5) de KIT arbitran la dimerización del receptor (véanse, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2008/153926; Yuzawa et al., *Cell*, 2007, 130:323-334).

Se ha detectado la expresión de KIT en diversos tipos de células, tales como mastocitos, células madre, células cerebrales, melanoblastos, células ováricas y células cancerosas (por ejemplo, células de leucemia). Los estudios de mutaciones de KIT con pérdida de función indican que KIT es importante para el desarrollo normal de células progenitoras hematopoyéticas, mastocitos, melanocitos, células germinales primordiales y las células intersticiales de Cajal (véanse, por ejemplo, Besmer, P., *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1991, 3:939-946; Lyman et al., *Blood*, 1998, 91:1101-1134; Ashman, L. K., *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 1999, 31:1037-1051; Kitamura et al., *Mutat. Res.*, 2001, 477:165-171; Mol et al., *J. Biol. Chem.*, 2003, 278:31461-31464). Además, KIT desempeña un importante papel en la hematopoyesis, la melanogénesis y la gametogénesis (véase Ueda et al., *Blood*, 2002, 99:3342-3349).

Se ha implicado a la actividad anormal de KIT en conexión con varios cánceres. Por ejemplo, se encuentran mutaciones de KIT con ganancia de función en una activación constitutiva independiente del SCF de KIT en ciertas células cancerosas y están asociadas con ciertos cánceres, tales como la leucemia (por ejemplo, leucemia mieloide crónica) y tumores estromales gastrointestinales (véase, por ejemplo, Mol et al., *J. Biol. Chem.*, 2003, 278:31461-31464).

El documento WO 2011/119948 describe anticuerpos anti KIT humano.

El documento WO2007/127317 describe un anticuerpo antagonista humanizado anti KIT humano.

El documento EP 0787743 describe un anticuerpo murino anti KIT humano.

El documento WO 92/17505 describe un anticuerpo murino anti KIT humano.

Blechman et al., *Cell*, vol. 80, nº 1, 1995-01-13, páginas 103-113, describen el uso de anticuerpos anti KIT al dominio extracelular.

Ashman et al., *Journal of Cellular Physiology*, vol. 158, nº 3, 1994-03-01, páginas 545-554, describen tres anticuerpos KIT: YB5.B8, 17F11 y SR-1.

El documento WO 2012/103165 describe el anticuerpo murino 37M anti KIT humano.

El documento WO 2012/154480 describe el anticuerpo humano CK6 anti KIT humano.

3. Compendio

En la presente memoria se proporcionan, en general, anticuerpos, fragmentos de unión a antígeno de los mismos, y conjugados de los mismos, que se unen inmuno-específicamente a un dominio 4 (D4) (o región D4) del dominio

extracelular de KIT (por ejemplo, KIT humano) e inhiben la actividad del KIT, así como composiciones, reactivos y métodos relacionados.

Específicamente, la invención proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a una región D4 del KIT humano, comprendiendo dicho anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo:

(i) (a) una VL que comprende la secuencia de aminoácidos:

DIVMTQSPSX_{K1}LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_{K2}LIYSASYR
YSGVPDRFX_{K3}GSFGSDFTLTISLQX_{K4}EDFAX_{K5}YX_{K6}CQQYNSYPRTFGGGTKVEI
K (SEQ ID NO:12),

en la que X_{K1} es un aminoácido con una cadena lateral aromática o hidroxilo alifática, X_{K2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática o hidroxilo alifática, X_{K3} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática, X_{K4} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática o es P, X_{K5} es un aminoácido con una cadena lateral cargada o ácida, y X_{K6} es un aminoácido con una cadena lateral aromática; y

(b) una VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18, respectivamente;

(ii) (a) una VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 21, respectivamente; y

(b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos:

QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPGKGLEWIARIY
PGSGNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LSSLRSEDX_{H8}AVYFCARGVY
YFDYWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:11),

en la que X_{H1} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H3} es un aminoácido con una cadena lateral polar o básica, X_{H4} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H5} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H6} es un aminoácido con una cadena lateral ácida, X_{H7} es un aminoácido con una cadena lateral ácida o de derivación amídica, y X_{H8} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática; o

(iii) (a) una VL que comprende la secuencia de aminoácidos:

DIVMTQSPSX_{K1}LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_{K2}LIYSASYR
YSGVPDRFX_{K3}GSFGSDFTLTISLQX_{K4}EDFAX_{K5}YX_{K6}CQQYNSYPRTFGGGTKVEI
K (SEQ ID NO:12),

en la que X_{K1} es un aminoácido con una cadena lateral aromática o hidroxilo alifática, X_{K2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática o hidroxilo alifática, X_{K3} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática, X_{K4} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática o es P, X_{K5} es un aminoácido con una cadena lateral cargada o ácida, y X_{K6} es un aminoácido con una cadena lateral aromática; y

(b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos:

QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPGKGLEWIARIY
PGSGNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LSSLRSEDX_{H8}AVYFCARGVY
YFDYWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:11),

en la que X_{H1} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H3} es un aminoácido con una cadena lateral polar o básica, X_{H4} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H5} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H6} es un aminoácido con una cadena lateral ácida, X_{H7} es un aminoácido con una cadena lateral ácida o de derivación amídica, y X_{H8} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática,

inhibiendo el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, la fosforilación de la tirosina de KIT con una Cl₅₀ de aproximadamente 600 pM o menor determinada por ELISA, e induciendo el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, la internalización del receptor KIT.

Además, la invención proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a una región D4 del KIT humano, comprendiendo dicho anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo:

- 5 (i) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;
- (ii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3;
- (iii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6;
- 10 (iv) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;
- (v) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;
- (vi) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3;
- 15 (vii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;
- (viii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6;
- 20 (ix) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;
- (x) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3;
- (xi) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;
- 25 (xii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;
- (xiii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3;
- 30 (xiv) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;
- (xv) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;
- (xvi) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6;
- 35 (xvii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;
- (xviii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;
- 40 (xix) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; o
- (xx) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

45 La invención también proporciona un conjugado que comprende el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención ligado a un agente.

La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención, o el conjugado de la invención, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

50 La invención también proporciona un polinucleótido o una combinación de polinucleótidos que comprende secuencias de nucleótidos que codifican el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención, un vector o una combinación de vectores que comprende el polinucleótido o la combinación de dichos polinucleótidos, así como una célula anfitriona que comprende el vector o el polinucleótido o la combinación de dichos polinucleótidos.

55 La invención también proporciona un equipo de reactivos que comprende el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención, o el conjugado de la invención.

La invención también proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención, o el conjugado de la invención, para ser usado en un método de tratamiento o gestión del cáncer, el asma, una afección inflamatoria o la fibrosis.

60 La invención también proporciona un método *in vitro* para el diagnóstico de un sujeto con un trastorno asociado con KIT, comprendiendo el método poner las células o la muestra obtenidas del sujeto en contacto con el anticuerpo, o el

fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención y detectar el nivel de expresión de KIT en las células o la muestra.

La invención también proporciona un método de creación de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une inmunoespecíficamente a una región D4 del KIT humano, comprendiendo dicho método cultivar y/o expresar el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo usando la célula de la invención.

Un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a una región D4 del KIT humano puede comprender:

- (i) una región de cadena ligera variable ("VL") que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 21, respectivamente; y
- (ii) una región de cadena pesada variable ("VH") que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18, respectivamente.

En una realización, la VL y la VH de un anticuerpo proporcionadas en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno de las mismas son no inmunogénicas en un ser humano. En una realización particular, el anticuerpo puede estar expresado en células de ovario de hámster chino (CHO) con una concentración de al menos 0,45 µg/mL. En una realización particular, el anticuerpo puede estar expresado en células de ovario de hámster chino (CHO) con una concentración de al menos 0,3 µg/mL, al menos 0,6 µg/mL, al menos 0,75 µg/mL, o al menos 1 µg/mL.

En cierto aspecto, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo, que se une inmunoespecíficamente a una región D4 del KIT humano, que comprende:

una región de cadena ligera variable ("VL") que comprende la secuencia de aminoácidos: DIVMTQSPSX_{K1}LSASVGDRVITITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_{K2}LIYS ASYRYSQVDPDRFX_{K3}SGSGTDFLTITSLQX_{K4}EDFAX_{K5}YX_{K6}CQQYNSYPRTFG GGTKVEIK (SEQ ID NO:12), en la que X_{K1} es un aminoácido con una cadena lateral aromática o hidroxilo alifática, X_{K2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática o hidroxilo alifática, X_{K3} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática, X_{K4} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática o es P, X_{K5} es un aminoácido con una cadena lateral cargada o ácida, y X_{K6} es un aminoácido con una cadena lateral aromática; y

una región de cadena pesada variable ("VH") que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18, respectivamente.

En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (o un fragmento del mismo o un conjugado del mismo), que se une inmunoespecíficamente a una región D4 del KIT humano, que comprende:

- (i) una VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 21, respectivamente; y
- (ii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos:

QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPGKGLEWI ARIYPGSGNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LSSLRSEDX_{H8}AVY

FCARGVYYFDYWGGTTVTVSS (SEQ ID NO:11), en la que X_{H1} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H3} es un aminoácido con una cadena lateral polar o básica, X_{H4} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H5} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H6} es un aminoácido con una cadena lateral ácida, X_{H7} es un aminoácido con una cadena lateral ácida o de derivación amídica, y X_{H8} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática.

En una realización particular, X_{K1} es el aminoácido F o S, X_{K2} es el aminoácido A o S, X_{K3} es el aminoácido T o S, X_{K4} es el aminoácido S o P, X_{K5} es el aminoácido D o T, y X_{K6} es el aminoácido F o Y.

En cierta realización, X_{K1} es el aminoácido S, X_{K2} es el aminoácido A, X_{K3} es el aminoácido T, X_{K4} es el aminoácido P, X_{K5} es el aminoácido D, y X_{K6} es el aminoácido F.

En una realización particular, X_{K1} es el aminoácido F, X_{K2} es el aminoácido A, X_{K3} es el aminoácido T, X_{K4} es el aminoácido S, X_{K5} es el aminoácido D, y X_{K6} es el aminoácido F.

En una realización particular, X_{K1} es el aminoácido F o S, X_{K2} es el aminoácido A, X_{K3} es el aminoácido T, X_{K4} es el aminoácido S o P, X_{K5} es el aminoácido D, y X_{K6} es el aminoácido F.

En una realización particular, X_{K1} es el aminoácido S, X_{K2} es el aminoácido A, X_{K3} es el aminoácido T, X_{K4} es el aminoácido P, X_{K5} es el aminoácido D, y X_{K6} es el aminoácido F.

En una realización particular, X_{K1} es el aminoácido S, X_{K2} es el aminoácido S, X_{K3} es el aminoácido S, X_{K4} es el aminoácido P, X_{K5} es el aminoácido T, y X_{K6} es el aminoácido Y.

- 5 En una realización, X_{H1} es el aminoácido L o V, X_{H2} es el aminoácido L o V, X_{H3} es el aminoácido K o R, X_{H4} es el aminoácido V o A, X_{H5} es el aminoácido L o I, X_{H6} es el aminoácido E o D, X_{H7} es el aminoácido Q o E, y X_{H8} es el aminoácido S o T.

10 En una realización específica, X_{H1} es el aminoácido V, X_{H2} es el aminoácido L o V, X_{H3} es el aminoácido R o Q, X_{H4} es el aminoácido A, X_{H5} es el aminoácido L o I, X_{H6} es el aminoácido D, X_{H7} es el aminoácido Q o E, y X_{H8} es el aminoácido T.

En una realización específica, X_{H1} es el aminoácido V, X_{H2} es el aminoácido L, X_{H3} es el aminoácido R, X_{H4} es el aminoácido A, X_{H5} es el aminoácido L, X_{H6} es el aminoácido D, X_{H7} es el aminoácido Q, y X_{H8} es el aminoácido T.

En cierta realización, X_{H1} es el aminoácido V, X_{H2} es el aminoácido V, X_{H3} es el aminoácido R, X_{H4} es el aminoácido A, X_{H5} es el aminoácido I, X_{H6} es el aminoácido D, X_{H7} es el aminoácido E, y X_{H8} es el aminoácido T.

- 15 En cierta realización, X_{H1} es el aminoácido L, X_{H2} es el aminoácido L, X_{H3} es el aminoácido K, X_{H4} es el aminoácido A, X_{H5} es el aminoácido L, X_{H6} es el aminoácido E, X_{H7} es el aminoácido Q, y X_{H8} es el aminoácido S.

En cierta realización, X_{H1} es el aminoácido V, X_{H2} es el aminoácido L, X_{H3} es el aminoácido K, X_{H4} es el aminoácido A, X_{H5} es el aminoácido L, X_{H6} es el aminoácido E, X_{H7} es el aminoácido Q, y X_{H8} es el aminoácido T.

- 20 En cierta realización, X_{H1} es el aminoácido V, X_{H2} es el aminoácido V, X_{H3} es el aminoácido R, X_{H4} es el aminoácido V, X_{H5} es el aminoácido I, X_{H6} es el aminoácido D, X_{H7} es el aminoácido E, y X_{H8} es el aminoácido T.

En una realización particular, X_{K1} a X_{K6} es un aminoácido definido en la Tabla 6A, y/o X_{H1} a X_{H8} es un aminoácido definido en la Tabla 6B.

- 25 En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo, que se une inmuno-específicamente a una región D4 del KIT humano, que comprende:

- i) una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90% idéntica a la SEQ ID NO: 7, al menos un 88% idéntica a la SEQ ID NO: 8, al menos un 87% idéntica a la SEQ ID NO: 9, o al menos un 84% idéntica a la SEQ ID NO: 10; y
 ii) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 93% idéntica a la SEQ ID NO: 2, al menos un 92% idéntica a la SEQ ID NO: 3, al menos un 90% idéntica a la SEQ ID NO: 4, al menos un 87% idéntica a la SEQ ID NO: 5, o al menos un 86% idéntica a la SEQ ID NO: 6.
- 30

En cierto aspecto, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo, que se une inmuno-específicamente a una región D4 del KIT humano, que comprende:

- 35 i) una región de cadena ligera variable ("VL") que comprende la secuencia de aminoácidos: DIVMTQSPSX_{K1}LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_K
 2LIYSASYRYSQVDFRFX_{K3}SGSGTDFLTISLQX_{K4}EDFAX_{K5}YX_{K6}CQQ YNSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:12), en la que X_{K1} es un aminoácido con una cadena lateral aromática o hidroxilo alifática, X_{K2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática o hidroxilo alifática, X_{K3} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática, X_{K4} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática o es P, X_{K5} es un aminoácido con una cadena lateral cargada o ácida, y X_{K6} es un aminoácido con una cadena lateral aromática; y
 40 ii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos: QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPGK
 45 GLEWIARIYPGSGNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LSSL
 RSEDX_{H8}AYYFCARGVYYFDYWGGTQTTVTVSS (SEQ ID NO:11), en la que X_{H1} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H3} es un aminoácido con una cadena lateral polar o básica, X_{H4} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H5} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H6} es un aminoácido con una cadena lateral ácida, X_{H7} es un aminoácido con una cadena lateral ácida o de derivación amídica, y X_{H8} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática.
- 50

En una realización particular, X_{K1} a X_{K6} es un aminoácido definido en la Tabla 6A, y/o X_{H1} a X_{H8} es un aminoácido definido en la Tabla 6B.

- En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria se une específicamente a células CHO expresando de manera recombinante el KIT de la forma natural con una CE_{50} de aproximadamente 150 pM o menor determinada por citometría de flujo. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria se une específicamente a una región recombinante D4/D5 del KIT humano con una CE_{50} de aproximadamente 600 pM o menor, o entre aproximadamente 250 pM y aproximadamente 600 pM, determinada por citometría de flujo. En cierta realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria inhibe la fosforilación de la tirosina de KIT con una CI_{50} de aproximadamente 600 pM o menor determinada por ELISA.
- En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede ser expresado en células CHO con una concentración de al menos 1,0 µg/mL, o al menos 1,1 µg/mL o al menos 1,2 µg/mL.
- En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria comprende, además, una región constante de cadena ligera humana y una región constante de cadena pesada humana. En una realización, la región constante de cadena ligera humana de un anticuerpo descrito en la presente memoria es una región constante de cadena ligera kappa humana. En una realización particular, la región constante de cadena pesada humana de un anticuerpo descrito en la presente memoria es una región constante de cadena pesada gamma humana.
- En cierta realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria es un anticuerpo IgG1 o IgG4 humano. En cierta realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria es un fragmento de unión a antígeno o un fragmento Fab. En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria es un fragmento de unión a antígeno o un fragmento Fab. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria es un anticuerpo biespecífico. En cierta realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria está internalizado por una célula.
- En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un conjugado que comprende un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento de unión al KIT del mismo, ligado a un agente. En una realización específica, el agente es una toxina. En cierta realización, la toxina es abrina, ricina A, exotosina pseudomonas, toxina del cólera o toxina de la difteria. En una realización, el conjugado está internalizado por una célula.
- En cierto aspecto, en la presente memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende un conjugado descrito en la presente memoria y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- En otro aspecto, en la presente memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo descrito en la presente memoria y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un polinucleótido que comprende secuencias de nucleótidos que codifican una región de cadena VH, una región de cadena VL, o tanto una región de cadena VL como una región de cadena VH, de un anticuerpo descrito en la presente memoria.
- En una realización específica, un polinucleótido (por ejemplo, un polinucleótido aislado) proporcionado en la presente memoria comprende la SEQ ID NO: 22, 23, 24, 25 o 26 que codifica una VH. En cierta realización, un polinucleótido (por ejemplo, un polinucleótido aislado) proporcionado en la presente memoria comprende la SEQ ID NO: 27, 28, 29 o 30 que codifica una VL. En una realización particular, un polinucleótido (por ejemplo, un polinucleótido aislado) o una población de polinucleótidos (por ejemplo, una población de polinucleótidos aislados) proporcionados en la presente memoria comprende la SEQ ID NO: 22, 23, 24, 25 o 26 que codifica una VH y la SEQ ID NO: 27, 28, 29 o 30 que codifica una VL.
- En una realización particular, un polinucleótido (por ejemplo, un polinucleótido aislado) o una población de polinucleótidos (por ejemplo, una población de polinucleótidos aislados) proporcionados en la presente memoria comprende la SEQ ID NO: 22 que codifica una VH y la SEQ ID NO: 27 que codifica una VL.
- En una realización particular, un polinucleótido (por ejemplo, un polinucleótido aislado) o una población de polinucleótidos (por ejemplo, una población de polinucleótidos aislados) proporcionados en la presente memoria comprende la SEQ ID NO: 22 que codifica una VH y la SEQ ID NO: 28 que codifica una VL.
- En una realización particular, un polinucleótido (por ejemplo, un polinucleótido aislado) o una población de polinucleótidos (por ejemplo, una población de polinucleótidos aislados) proporcionados en la presente memoria comprende la SEQ ID NO: 22 que codifica una VH y la SEQ ID NO: 29 que codifica una VL.
- En una realización particular, un polinucleótido (por ejemplo, un polinucleótido aislado) o una población de polinucleótidos (por ejemplo, una población de polinucleótidos aislados) proporcionados en la presente memoria comprende la SEQ ID NO: 22 que codifica una VH y la SEQ ID NO: 30 que codifica una VL.
- En una realización particular, un polinucleótido (por ejemplo, un polinucleótido aislado) o una población de polinucleótidos (por ejemplo, una población de polinucleótidos aislados) proporcionados en la presente memoria comprende la SEQ ID NO: 23 que codifica una VH y la SEQ ID NO: 27 que codifica una VL.

- En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona una célula que produce un anticuerpo descrito en la presente memoria. En una realización, una célula proporcionada en la presente memoria comprende uno o más polinucleótidos descritos en la presente memoria, pudiendo expresar la célula un anticuerpo que se une específicamente a una región D4 del KIT humano. En cierta realización, la célula comprende un vector descrito en la presente memoria.
- En un aspecto específico, en la presente memoria se proporciona un equipo de reactivos que comprende un anticuerpo (o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo) descrito en la presente memoria. En una realización particular, un equipo de reactivos comprende un conjugado descrito en la presente memoria.
- En cierto aspecto, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo proporcionado en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo para su uso en un método para el tratamiento o la gestión de un trastorno asociado con KIT (por ejemplo, cáncer)
- En un aspecto, en la presente memoria se proporciona una cantidad terapéuticamente eficaz de un conjugado descrito en la presente memoria para su uso en un método para el tratamiento o la gestión de un trastorno asociado con KIT.
- En una realización particular, el trastorno asociado con KIT es cáncer, una afección inflamatoria o fibrosis. En una realización específica, el cáncer es leucemia, leucemia mieloide crónica, cáncer de pulmón, cáncer microcítico de pulmón o tumores estromales gastrointestinales. En una realización, el cáncer es refractario al tratamiento con un inhibidor de la tirosina quinasa. En una realización adicional, el inhibidor de la tirosina quinasa es mesilato de imatinib o SU11248.
- En cierta realización, un método proporcionado en la presente memoria comprende, además, la administración de un segundo agente. En una realización específica, el segundo agente es un agente quimioterapéutico, inhibidor de la tirosina quinasa, un inhibidor de la histona deacetilasa, un anticuerpo o una citoquina. En una realización particular, el inhibidor de la tirosina quinasa es mesilato de imatinib o SU11248.
- En un aspecto específico, en la presente memoria se proporciona un método *in vitro* para el diagnóstico de un sujeto con un trastorno asociado con KIT que comprende poner las células o la muestra obtenidas del sujeto en contacto con un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo) y detectar el nivel de expresión de KIT en las células o la muestra. Por ejemplo, la detección de la unión de un anticuerpo descrito en la presente memoria a un antígeno de KIT presente en la célula o la muestra puede estar correlacionada con el nivel de expresión de KIT en la célula o la muestra. En una realización particular, el anticuerpo está conjugado con una molécula detectable. En cierta realización, la molécula detectable es una enzima, una molécula fluorescente, una molécula luminiscente o una molécula radiactiva.
- En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un método para inhibir la actividad del KIT en una célula que expresa el KIT que comprende poner la célula en contacto con una cantidad eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo).
- En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un método para inducir o potenciar la apoptosis en una célula que expresa el KIT que comprende poner la célula en contacto con una cantidad eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo).
- En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un método para inducir la diferenciación celular que comprende poner una célula que expresa el KIT con una cantidad eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo). En una realización particular, la célula es una célula madre.
- En cierto aspecto, en la presente memoria se proporciona un método de creación de un anticuerpo que se une inmuno-específicamente a una región D4 del KIT humano que comprende cultivar una célula o célula anfitriona descrita en la presente memoria. En cierto aspecto, en la presente memoria se proporciona un método de creación de un anticuerpo que se une inmuno-específicamente a una región D4 del KIT humano que comprende expresar el anticuerpo usando una célula o célula anfitriona descrita en la presente memoria. En una realización particular, la célula es una célula aislada. En una realización particular, el método comprende, además, la etapa de purificar el anticuerpo obtenido de la célula o célula anfitriona.
- En un aspecto, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a una región D4 del KIT humano, comprendiendo dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo:
- (i) una región de cadena ligera variable ("VL") que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL seleccionadas del grupo definido en las Tablas 10-12; y

- (ii) una región de cadena pesada variable ("VH") que comprende Una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH seleccionadas del grupo definido en las Tablas 13-15.

En cierto aspecto, en la presente memoria se describe un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprendiendo dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo:

- 5 (i) una VL que comprende una FR1 VL, una FR2 VL, una FR3 VL y una FR4 VL seleccionadas del grupo definido en las Tablas 20-23; y
- (ii) una VH que comprende una FR1 VH, una FR2 VH, una FR3 VH y una FR4 VH seleccionadas del grupo definido en las Tablas 16-19.

10 En un aspecto particular, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno descrito en la presente memoria comprende una región Fc con una modificación de aminoácidos. En cierto aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno descrito en la presente memoria comprende una región Fc que es un isotipo IgG1 o un isotipo IgG4. En un aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno descrito en la presente memoria es un anticuerpo humanizado. En un aspecto particular, el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria es un anticuerpo biespecífico.

15 En cierto aspecto, en la presente memoria se describe un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo que está conjugado con otro agente.

En un aspecto, en la presente memoria se proporciona una composición que comprende un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria.

20 En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un polinucleótido que comprende secuencias de nucleótidos que codifican una región de cadena VH, una región de cadena VL, o tanto una región de cadena VL como una región de cadena VH, de un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias definidas en las Tablas 10-15). También se proporciona un vector que comprende el polinucleótido descrito en la presente memoria. En un aspecto, el vector es un vector de expresión en mamíferos.

25 En cierto aspecto, en la presente memoria se proporciona una célula anfitriona que comprende un vector de uno o más polinucleótidos descritos en la presente memoria. En un aspecto, en la presente memoria se proporciona una célula que produce un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias definidas en las Tablas 10-15).

30 En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un equipo de reactivos que comprende un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias definidas en las Tablas 10-15).

35 En cierto aspecto, en la presente memoria se proporciona una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias definidas en las Tablas 10-15) para su uso en un método de tratamiento o gestión de un trastorno asociado con KIT. En una realización, el trastorno asociado con KIT es cáncer, una afección inflamatoria o fibrosis. En una realización particular, el cáncer es leucemia, leucemia mieloide crónica, cáncer de pulmón, cáncer microcítico de pulmón o tumores estromales gastrointestinales.

40 En un aspecto particular, el método para el tratamiento o la gestión de un trastorno asociado con KIT descrito en la presente memoria comprende, además, la administración de un segundo agente. En una realización particular, el segundo agente es un agente quimioterapéutico, un inhibidor de la tirosina quinasa, un inhibidor de la histona deacetilasa, un anticuerpo, una citoquina, un inhibidor HSP90, un inhibidor PGP o un inhibidor de proteosomas.

45 En un aspecto, en la presente memoria se proporciona un método *in vitro* para el diagnóstico de un sujeto con un trastorno asociado con KIT que comprende poner las células o la muestra obtenidas del sujeto en contacto con un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias definidas en las Tablas 10-15) y detectar el nivel de expresión de KIT en las células o la muestra. En cierta realización, el anticuerpo está conjugado con una molécula detectable.

50 En cierto aspecto, en la presente memoria se proporciona un método para inhibir la actividad del KIT en una célula que expresa el KIT que comprende poner la célula en contacto con una cantidad eficaz de un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias definidas en las Tablas 10-15).

55 Un método para inducir o potenciar la apoptosis en una célula que expresa el KIT comprende poner la célula en contacto con una cantidad eficaz de un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la

presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias definidas en las Tablas 10-15).

Un método de creación de un anticuerpo que se une inmuno-específicamente a una región D4 del KIT humano que comprende cultivar y/o expresar el anticuerpo usando una célula descrita en la presente memoria.

5 4. Breve descripción de las Figuras

La **Fig. 1** representa la secuencia de aminoácidos del KIT humano de longitud máxima (SEQ ID NO: 1), Número de entrada en GenBank™ AAC50969. Se indican los dominios extracelulares del primero al quinto de tipo Ig (es decir, D1, D2, D3, D4 y D5); “{” representa el residuo amino terminal de cada dominio y “}” representa el residuo carboxilo terminal de cada dominio. El dominio D1 está representado de P34 a R112, el dominio D2 está representado de D113 a P206, el dominio D3 está representado de A207 a D309, el dominio D4 está representado de K310 a N410 (SEQ ID NO: 15), la región bisagra entre D4 y D5 está situada entre V409 y N410, y el dominio D5 está representado de T411 a K509. Además, la región bisagra D1/D2 está situada entre D113 y L117; la región bisagra D2/D3 está situada entre P206 y A210; y la región bisagra D3/D4 está situada entre D309 y G311. La región bisagra D4/D5 comprende de K310 a K509. El dominio transmembranal comprende los residuos F525 a Q545, y el dominio quinasa comprende los residuos K589 a S933.

La **Fig. 2** representa la secuencia de aminoácidos de un KIT recombinante D4/D5. Los aminoácidos del KIT humano V308 a H515 (SEQ ID NO: 73) están representados en negrita. El polipéptido representado (SEQ ID NO: 14) contiene (i) los primeros 33 aminoácidos (es decir, M1 a E33) del terminal amino del KIT humano (incluyendo el péptido señal, subrayado, no en negrita), (ii) la región D4/D5 del KIT humano (en negrita), y (iii) una etiqueta 5xHis (en cursiva) en el terminal carboxilo.

La **Fig. 3A** representa la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 2) del dominio H1 VH, y un ADN (SEQ ID NO:22) que codifica la secuencia de aminoácidos. Se indican las regiones marco (FR1, FR2, FR3 y FR4), y las CDR (CDR1, CDR2 y CDR3). Se indica tanto la numeración de Kabat como la numeración numérica de los residuos de aminoácido indicados.

La **Fig. 3B** representa la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 3) del dominio H2 VH y un ADN (SEQ ID NO:23) que codifica la secuencia de aminoácidos. Se indican las regiones marco (FR1, FR2, FR3 y FR4), y las CDR (CDR1, CDR2 y CDR3). Se indica tanto la numeración de Kabat como la numeración numérica de los residuos de aminoácido indicados.

La **Fig. 3C** representa la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 4) del dominio H3 VH y un ADN (SEQ ID NO:24) que codifica la secuencia de aminoácidos. Se indican las regiones marco (FR1, FR2, FR3 y FR4), y las CDR (CDR1, CDR2 y CDR3). Se indica tanto la numeración de Kabat como la numeración numérica de los residuos de aminoácido indicados.

La **Fig. 3D** representa la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 5) del dominio H4 VH y un ADN (SEQ ID NO:25) que codifica la secuencia de aminoácidos. Se indican las regiones marco (FR1, FR2, FR3 y FR4), y las CDR (CDR1, CDR2 y CDR3). Se indica tanto la numeración de Kabat como la numeración numérica de los residuos de aminoácido indicados.

La **Fig. 3E** representa la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 6) del dominio H5 VH y un ADN (SEQ ID NO:26) que codifica la secuencia de aminoácidos. Se indican las regiones marco (FR1, FR2, FR3 y FR4), y las CDR (CDR1, CDR2 y CDR3). Se indica tanto la numeración de Kabat como la numeración numérica de los residuos de aminoácido indicados.

La **Fig. 3F** representa la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 7) del dominio L1 VL y un ADN (SEQ ID NO:27) que codifica la secuencia de aminoácidos. Se indican las regiones marco (FR1, FR2, FR3 y FR4), y las CDR (CDR1, CDR2 y CDR3). Se indica tanto la numeración de Kabat como la numeración numérica de los residuos de aminoácido indicados.

La **Fig. 3G** representa la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 8) del dominio L2 VL y un ADN (SEQ ID NO:28) que codifica la secuencia de aminoácidos. Se indican las regiones marco (FR1, FR2, FR3 y FR4), y las CDR (CDR1, CDR2 y CDR3). Se indica tanto la numeración de Kabat como la numeración numérica de los residuos de aminoácido indicados.

La **Fig. 3H** representa la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 9) del dominio L3 VL y un ADN (SEQ ID NO:29) que codifica la secuencia de aminoácidos. Se indican las regiones marco (FR1, FR2, FR3 y FR4), y las CDR (CDR1, CDR2 y CDR3). Se indica tanto la numeración de Kabat como la numeración numérica de los residuos de aminoácido indicados.

La **Fig. 3I** representa la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 10) del dominio L4 VL y un ADN (SEQ ID NO:30) que codifica la secuencia de aminoácidos. Se indican las regiones marco (FR1, FR2, FR3 y FR4), y

las CDR (CDR1, CDR2 y CDR3). Se indica tanto la numeración de Kabat como la numeración numérica de los residuos de aminoácido indicados.

La **Fig. 4A** representa la secuencia de consenso (SEQ ID NO:11) de un dominio VH. X_{H1-H8} indican aminoácidos que pueden ser un aminoácido cualquiera.

5 La **Fig. 4B** representa la secuencia de consenso (SEQ ID NO:12) de un dominio VL. X_{K1-K6} indican aminoácidos que pueden ser un aminoácido cualquiera.

La **Fig. 5** representa la actividad de unión de los anticuerpos Hum17, Hum8, Hum4 y Hum10, así como una quimera del anticuerpo 37M ("quimera"), a un polipéptido recombinante de la región D4/D5 del KIT humano determinada por ELISA en fase sólida. Se indica el valor CE_{50} para cada anticuerpo.

10 La **Fig. 6** representa un gráfico de los resultados de ensayos de unión realizados por citometría de flujo con células CHO que expresan de manera recombinante el KIT humano de la forma natural para calificar la actividad de unión al KIT de los anticuerpos Hum17, Hum8, Hum4 y Hum10, en comparación con una quimera del anticuerpo 37M ("quimera"). Se indica el valor CE_{50} para cada anticuerpo.

15 La **Fig. 7** representa un gráfico de los resultados de ensayos de inhibición de la fosforilación del KIT realizados por ELISA con células CHO que expresan de manera recombinante el KIT de la forma natural para calificar la actividad de bloqueo de la fosforilación de los anticuerpos Hum17, Hum8, Hum4 y Hum10, en comparación con una quimera del anticuerpo 37M ("quimera"). Se indica los valores CI_{50} para cada anticuerpo.

5. Descripción detallada

20 A no ser que se defina algo distinto, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado comúnmente entendido por una persona con un dominio normal de la técnica.

Según se usan en la presente memoria, los términos "alrededor de" o "aproximadamente" significan dentro de más o menos un 10% de un valor o un intervalo dado.

25 En la presente memoria se proporcionan anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, un polipéptido KIT que contenga un dominio D4 del KIT humano), y conjugados de los mismos. También se proporcionan ácidos nucleicos aislados (polinucleótidos) que codifican tales anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos. Además, se proporcionan vectores (por ejemplo, vectores de expresión) y células (por ejemplo, células anfitrionas) que comprenden ácidos nucleicos que codifican tales anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. También se proporcionan métodos de creación de tales anticuerpos en células, por ejemplo, células anfitrionas. También se proporcionan en la presente memoria uno o más anticuerpos descritos en la presente memoria, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos o un conjugado de los mismos para su uso en métodos y usos para el tratamiento o la gestión de un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria o fibrosis) o uno o más efectos de tal trastorno o enfermedad asociado con KIT. En la presente memoria también se proporcionan métodos *in vitro* para el diagnóstico de un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria o fibrosis) que comprende poner una muestra en contacto con uno o más anticuerpos (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos) descritos en la presente memoria y determinar el nivel de expresión de KIT en la muestra con respecto a una muestra de referencia (por ejemplo, una muestra de control). En la presente memoria también se proporcionan métodos y usos para inhibir la actividad del KIT en una célula que expresa el KIT que comprende poner la célula en contacto con una cantidad eficaz de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En la presente memoria también se proporcionan métodos para inducir o potenciar la diferenciación celular o la apoptosis en una célula que expresa el KIT que comprende poner la célula en contacto con una cantidad eficaz de un anticuerpo o anticuerpos descritos en la presente memoria.

45 La presente invención proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a una región D4 del KIT humano, comprendiendo dicho anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo:

(i) (a) una VL que comprende la secuencia de aminoácidos:

DIVMTQSPSX_{K1}LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_{K2}LIYSASYR
YSGVPDRFX_{K3}GSGSGTDFLTISLQX_{K4}EDFAX_{K5}YX_{K6}CQQYNSYPRTFGGGTKVEI
K (SEQ ID NO:12),

50 en la que X_{K1} es un aminoácido con una cadena lateral aromática o hidroxilo alifática, X_{K2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática o hidroxilo alifática, X_{K3} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo

alifática, X_{K4} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática o es P, X_{K5} es un aminoácido con una cadena lateral cargada o ácida, y X_{K6} es un aminoácido con una cadena lateral aromática; y

(b) una VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18, respectivamente;

5 (ii) (a) una VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 21, respectivamente; y

(b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos:

QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPGKGLEWIARIY
PGSGNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LSSLRSEDX_{H8}AVYFCARGVY
YFDYWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:11),

10 en la que X_{H1} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H3} es un aminoácido con una cadena lateral polar o básica, X_{H4} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H5} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H6} es un aminoácido con una cadena lateral ácida, X_{H7} es un aminoácido con una cadena lateral ácida o de derivación amídica, y X_{H8} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática; o

(iii) (a) una VL que comprende la secuencia de aminoácidos:

DIVMTQSPSX_{K1}LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_{K2}LIYSASYR
YSGVPDRFX_{K3}GSFGSGTDFTLTISLQX_{K4}EDFAX_{K5}YX_{K6}CQQYNSYPRTFGGGTKVEI
15 K (SEQ ID NO:12),

en la que X_{K1} es un aminoácido con una cadena lateral aromática o hidroxilo alifática, X_{K2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática o hidroxilo alifática, X_{K3} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática, X_{K4} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática o es P, X_{K5} es un aminoácido con una cadena lateral cargada o ácida, y X_{K6} es un aminoácido con una cadena lateral aromática; y

20 (b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos:

QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPGKGLEWIARIY
PGSGNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LSSLRSEDX_{H8}AVYFCARGVY
YFDYWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:11),

25 en la que X_{H1} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H3} es un aminoácido con una cadena lateral polar o básica, X_{H4} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H5} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H6} es un aminoácido con una cadena lateral ácida, X_{H7} es un aminoácido con una cadena lateral ácida o de derivación amídica, y X_{H8} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática,

inhibiendo el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, la fosforilación de la tirosina de KIT con una CI_{50} de aproximadamente 600 pM o menor determinada por ELISA, e induciendo el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, la internalización del receptor KIT.

30 Además, la invención proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a una región D4 del KIT humano, comprendiendo dicho anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo:

- (i) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;
- 35 (ii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3;
- (iii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6;
- (iv) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;
- 40 (v) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;

- (vi) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3;
- (vii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;
- 5 (viii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6;
- (ix) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;
- (x) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3;
- 10 (xi) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;
- (xii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;
- 15 (xiii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3;
- (xiv) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;
- (xv) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;
- 20 (xvi) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6;
- (xvii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;
- 25 (xviii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;
- (xix) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; o
- 30 (xx) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

La invención también proporciona un conjugado que comprende el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención ligado a un agente.

35 La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención, o el conjugado de la invención, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La invención también proporciona un polinucleótido o una combinación de polinucleótidos que comprende secuencias de nucleótidos que codifican el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención, un vector o una combinación de vectores que comprende el polinucleótido o la combinación de dichos polinucleótidos, así como una célula anfitriona que comprende el vector o el polinucleótido o la combinación de dichos polinucleótidos.

40

La invención también proporciona un equipo de reactivos que comprende el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención, o el conjugado de la invención.

45 La invención también proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención, o el conjugado de la invención, para ser usado en un método de tratamiento o gestión del cáncer, el asma, una afección inflamatoria o la fibrosis.

La invención también proporciona un método *in vitro* para el diagnóstico de un sujeto con un trastorno asociado con KIT, comprendiendo el método poner las células o una muestra obtenidas del sujeto en contacto con el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención y detectar el nivel de expresión de KIT en las células o la muestra.

50 La invención también proporciona un método de creación de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une inmunoespecíficamente a una región D4 del KIT humano, comprendiendo dicho método cultivar y/o expresar el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo usando la célula de la invención.

55 Según son usadas en la presente memoria, las expresiones "región D4/D5" o "dominio D4/D5" se refieren a una región dentro de un polipéptido KIT que abarca el cuarto dominio extracelular ("D4") de tipo Ig, el quinto dominio extracelular ("D5") de tipo Ig, y la región bisagra entre los dominios D4 y D5 ("región bisagra D4-D5"), de KIT, en el siguiente orden desde el terminal amino hasta el terminal carboxilo: D4, región bisagra D4-D5, y D5. Según se usan en la presente memoria, se considera a los aminoácidos V308 a H515 de la Figura 1 y al polipéptido representado en la Figura 2 en la presente memoria ejemplos de una región o dominio D4/D5.

Según se usan en la presente memoria, las expresiones “KIT” o “receptor KIT” o “polipéptido KIT” se refieren a cualquier forma del KIT de longitud máxima incluyendo, sin limitación, KIT nativo, una isoforma de KIT, un homólogo interespecie de KIT, o una variante de KIT que se dé, por ejemplo, de forma natural (por ejemplo, una variante alélica o de empalme, o un mutante, por ejemplo, un mutante somático) o una variante construida artificialmente (por ejemplo, una variante recombinante o modificada químicamente). KIT es un receptor tirosina quinasa de tipo III codificado por el gen *c-kit* (véanse, por ejemplo, Yarden et al., *Nature*, 1986, 323:226-232; Ullrich y Schlessinger, *Cell*, 1990, 61:203-212; Clifford et al., *J. Biol. Chem.*, 2003, 278:31461-31464; Yarden et al., *EMBO J.*, 1987, 6:3341-3351; Mol et al., *J. Biol. Chem.*, 2003, 278:31461-31464). El número de entrada en GenBank™ NM_000222 proporciona una secuencia ejemplar de aminoácidos del KIT humano. los números de entrada en GenBank™ NP_001087241, P10721 y AAC50969 proporcionan secuencias ejemplares de aminoácidos del KIT humano. El número de entrada en GenBank™ AAH75716 proporciona una secuencia ejemplar de aminoácidos del KIT murino. El KIT nativo comprende cinco dominios extracelulares (D1, D2, D3, D4, D5) de tipo inmunoglobulina (Ig), una única región transmembranal, un dominio yuxtamembranal citoplasmático inhibidor y un dominio quinasa citoplasmático escindido separado por un segmento de insertos de quinasa (véanse, por ejemplo, Yarden et al., *Nature*, 1986, 323:226-232; Ullrich y Schlessinger, *Cell*, 1990, 61:203-212; Clifford et al., *J. Biol. Chem.*, 2003, 278:31461-31464). En la Figura 1, se proporciona una secuencia ejemplar de aminoácidos de la región D4/D5 del KIT humano en los residuos de aminoácido V308 a H515. En una realización específica, el KIT es KIT humano. En una realización particular, el KIT puede existir como un monómero, un dímero, un multímero, una forma nativa o una forma desnaturalizada.

En el contexto de un péptido o un polipéptido, el término “fragmento” usado en la presente memoria se refiere a un péptido o un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que no llega a ser completa. Tal fragmento puede surgir, por ejemplo, de un truncamiento en el terminal amino, de un truncamiento en el terminal carboxi, y/o de una delección interna de uno o varios residuos de la secuencia de aminoácidos. Los fragmentos pueden ser resultado, por ejemplo, de un empalme alternativo del ARN o de la actividad de la proteasa *in vivo*. En ciertas realizaciones, los fragmentos de KIT o los fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, fragmentos de anticuerpo que se unen inmuno-específicamente a un polipéptido KIT) incluyen polipéptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos de al menos 5 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 10 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 15 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 20 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 25 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 40 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 50 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 60 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 70 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 80 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 90 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 100 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 125 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 150 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 175 residuos de aminoácido contiguos, de al menos 200 residuos de aminoácido contiguos, o de al menos 250 residuos de aminoácido contiguos de la secuencia de aminoácidos de un polipéptido KIT o de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT), respectivamente. En una realización específica, un fragmento de un polipéptido KIT o un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT) retiene al menos 1, al menos 2 o al menos 3 funciones del polipéptido o del anticuerpo.

Según es usada en el presente documento, la expresión “célula anfitriona” se refiere a una célula particular que comprende una molécula exógena de ácido nucleico; por ejemplo, una célula que haya sido transfectada o transformada con una molécula de ácido nucleico, y la progenie o la progenie potencial de tal célula precursora. La progenie de tal célula puede no ser idéntica a la célula precursora debido a mutaciones o a influencias medioambientales que se producen en las sucesivas generaciones o a la integración de la molécula de ácido nucleico en el genoma de la célula anfitriona.

5.1 Anticuerpos

Según son usados en la presente memoria, los términos “anticuerpo” e “inmunoglobulina” e “Ig” son términos de la técnica y pueden ser usados de manera intercambiable en la presente memoria y se refieren a una molécula con un sitio de unión a antígeno que se une inmuno-específicamente a un antígeno.

Según se usa en la presente memoria, un “antígeno” es un resto o molécula que contiene un epítipo y, como tal, también se le une específicamente un anticuerpo. En una realización específica, el antígeno, al que se une un anticuerpo descrito en la presente memoria, es KIT (por ejemplo, KIT humano), o un fragmento del mismo —por ejemplo, un dominio extracelular de KIT (por ejemplo, KIT humano) o una región D4 de KIT (por ejemplo, KIT humano)—.

Según se usa en la presente memoria, “epítipo” es un término de la técnica y se refiere a una región localizada de un antígeno al que puede unirse específicamente un anticuerpo. Una región o un polipéptido que contribuya a un epítipo pueden ser aminoácidos contiguos del polipéptido, o un epítipo puede estar agrupado de dos o más regiones no contiguas del polipéptido.

Según se usan en la presente memoria, las expresiones “dominio de unión a antígeno”, “región de unión a antígeno”, “fragmento de unión a antígeno” y términos similares se refieren a una porción de una molécula de anticuerpo que comprende los residuos de aminoácido que interactúan con un antígeno y confieren a la molécula del anticuerpo su

especificidad para el antígeno (por ejemplo, las regiones determinantes de la complementariedad (CDR)). La región de unión a antígeno puede estar derivada de cualquier especie animal, tal como roedores (por ejemplo, ratón, rata o hámster) y seres humanos. Las CDR de una molécula de anticuerpo pueden ser determinadas mediante cualquier método bien conocido para un experto en la técnica. En particular, las CDR pueden ser determinadas según el sistema de numeración de Kabat (véase Kabat et al. (1991), *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (U.S. Department of Health and Human Services, Washington, D.C.) 5ª ed.). En ciertos aspectos, las CDR de un anticuerpo pueden ser determinadas según (i) el esquema de numeración de Chothia, al que se hará referencia en la presente memoria como las “CDR de Chothia” (véanse, por ejemplo, Chothia y Lesk, 1987, *J. Mol. Biol.*, 196:901-917; Al-Lazikani et al., 1997, *J. Mol. Biol.*, 273:927-948; y la patente estadounidense nº 7.709.226); o (ii) el sistema de numeración IMGT, según se describe, por ejemplo, en Lefranc, M.-P., 1999, *The Immunologist*, 7:132-136 y en Lefranc, M.-P. et al., 1999, *Nucleic Acids Res.*, 27:209-212.

Según se usan en la presente memoria, un “epítipo conformacional” o “epítipo no lineal” o “epítipo discontinuo” se refiere a uno comprendido por al menos dos aminoácidos que no son aminoácidos consecutivos en una sola cadena proteínica. Por ejemplo, un epítipo conformacional puede estar comprendido por dos o más aminoácidos que estén separados por un tramo de aminoácidos intermedios, pero que sean lo bastante cercanos para ser reconocidos por un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT), descritos en la presente memoria como un solo epítipo. Como ejemplo adicional, los aminoácidos que están separados por aminoácidos intermedios en una única cadena proteínica, o los aminoácidos que existan en cadenas proteínicas separadas, pueden ser llevados a una proximidad mutua debido a la forma conformacional de un complejo o estructura proteínica, convirtiéndose en un epítipo conformacional al que se puede unir un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria. Un experto en la técnica apreciará que, en general, un epítipo lineal al que se une un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria puede ser dependiente o no de una estructura secundaria, terciaria o cuaternaria del receptor KIT. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria se une a un grupo de aminoácidos con independencia de si están plegados en una estructura proteína tridimensional natural. En otras realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria no reconoce los residuos individuales de aminoácido que componen el epítipo, y requieren una conformación particular (doblar, retorcerse, girarse o plegarse) para reconocer el epítipo y unirse a él.

Según se usa en la presente memoria, la expresión “región constante” o “dominio constante” se refiere a una porción de anticuerpo —por ejemplo, una porción del terminal carboxilo de una cadena ligera y/o de una pesada— que no está directamente implicada en la unión de un anticuerpo al antígeno, pero que presenta diversas funciones efectoras, tales como la interacción con el receptor Fc. Las expresiones se refieren a una porción de una molécula de inmunoglobulina que tiene una secuencia de aminoácidos generalmente más conservada con respecto a un dominio variable de inmunoglobulina.

Según se usa en la presente memoria, la expresión “cadena pesada”, cuando es usada con referencia a un anticuerpo, se refiere a tipos diferenciados cualesquiera —por ejemplo, alfa (α), delta (δ), épsilon (ϵ), gamma (γ) y mu (μ), en función de la secuencia de aminoácidos del dominio constante— que dan origen a las clases de anticuerpos IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, respectivamente, incluyendo las subclases de IgG —por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄—. En una realización específica, la cadena pesada es una cadena pesada humana.

Según son usados en la presente memoria, las expresiones “se une inmuno-específicamente”, “reconoce inmuno-específicamente”, “se une específicamente” y reconoce específicamente” son expresiones análogas en el contexto de los anticuerpos y se refieren a moléculas que se unen a un antígeno (por ejemplo, un epítipo o un complejo inmunitario), según es entendida tal unión por un experto en la técnica. Por ejemplo, una molécula que se une específicamente a un antígeno puede unirse a otros péptidos o polipéptidos, generalmente con menor afinidad, determinada, por ejemplo, por inmunoensayos, Biacore™, un instrumento KinExA 3000 (Sapidyne Instruments, Boise, Idaho) u otros ensayos conocidos en la técnica. En una realización específica, las moléculas que se unen inmuno-específicamente a un antígeno se unen al antígeno con una K_a que es al menos 2 magnitudes logarítmicas, 2,5 magnitudes logarítmicas, 3 magnitudes logarítmicas, 4 magnitudes logarítmicas, o más, mayor que la K_a cuando las moléculas se unen a otro antígeno. En otra realización específica, las moléculas que se unen inmuno-específicamente a un antígeno no presentan reactividad cruzada con otras proteínas. En otra realización específica, las moléculas que se unen inmuno-específicamente a un antígeno no presentan reactividad cruzada con otras proteínas no de KIT.

Según se usa en la presente memoria, un anticuerpo “aislado” o “purificado” está sustancialmente libre de material celular o de otras proteínas contaminantes de la célula o de la fuente tisular de la que se deriva el anticuerpo, o sustancialmente libre de precursores químicos o de otros productos químicos cuando es sintetizado químicamente.

En la técnica se reconoce que la expresión “numeración de Kabat” y expresiones similares se refieren a un sistema de numeración de residuos de aminoácido en las regiones variables pesada y ligera de un anticuerpo, o de una porción de unión a antígeno del mismo (Kabat et al. (1971) *Ann. NY Acad. Sci.* 190:382-391, y Kabat et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª edición, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). Usando el sistema de numeración de Kabat, las CDR dentro de una molécula de la cadena pesada del anticuerpo están normalmente presentes en las posiciones de aminoácidos 31 a 35 (“CDR1”), en las

posiciones de aminoácidos 50 a 65 ("CDR2"), y en las posiciones de aminoácidos 95 a 102 ("CDR3"). Usando el sistema de numeración de Kabat las CDR dentro de una molécula de la cadena ligera del anticuerpo están normalmente presentes en las posiciones de aminoácidos 24 a 34 (CDR1), en las posiciones de aminoácidos 50 a 56 (CDR2), y en las posiciones de aminoácidos 89 a 97 (CDR3).

- 5 Según se usa en la presente memoria, la expresión "cadena ligera", cuando es usada con referencia a un anticuerpo, se refiere a tipos diferenciados cualesquiera; por ejemplo, kappa (κ) o lambda (λ), en función de la secuencia de aminoácidos de los dominios constantes. Las secuencias de aminoácidos de cadena ligera son bien conocidas en la técnica. En realizaciones específicas, la cadena ligera es una cadena ligera humana.

- 10 Según es usado en la presente memoria, la expresión "anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo obtenida de una población de anticuerpos homogéneos o sustancialmente homogéneos, y, normalmente, cada anticuerpo monoclonal reconocerá un único epítipo en el antígeno. El término "monoclonal" no está limitado a ningún método particular de creación del anticuerpo. Generalmente, células, una población de células o una línea celular pueden generar una población de anticuerpos monoclonales. En realizaciones específicas, un "anticuerpo monoclonal", según se usa en la presente memoria, es un anticuerpo producido por un único hibridoma o por otra célula (por ejemplo, una célula anfitriona que produzca un anticuerpo recombinante), uniéndose inmuno-específicamente el anticuerpo a un epítipo KIT (por ejemplo, un epítipo de una región D4 del KIT humano) según se determina, por ejemplo, mediante ELISA u otro ensayo de unión a antígeno o de unión competitiva conocido en la técnica o en los Ejemplos proporcionados en la presente memoria. Los anticuerpos monoclonales descritos en la presente memoria pueden ser creados, por ejemplo, por el método del hibridoma descrito en Kohler et al.; *Nature*, 256:495 (1975),
15 pueden ser aislados partiendo de bibliotecas de fagos usando, por ejemplo, las técnicas descritas en el presente documento. En la técnica son bien conocidos otros métodos para la preparación de líneas celulares clonales y de anticuerpos monoclonales expresados por ellas (véase, por ejemplo, el capítulo 11 de *Short Protocols in Molecular Biology*, (2002) 5ª ed., Ausubel et al., eds., John Wiley and Sons, Nueva York).

- 20 Según es usada en la presente memoria, la expresión "anticuerpos policlonales" se refiere a una población de anticuerpos que incluye una variedad de anticuerpos diferentes dirigidos a epítopos iguales y diferentes dentro de uno o varios antígenos. En la técnica se conocen métodos para producir anticuerpos policlonales (véase, por ejemplo, el capítulo 11 de *Short Protocols in Molecular Biology*, (2002) 5ª ed., Ausubel et al., eds., John Wiley and Sons, Nueva York).

- 25 Según es usada en la presente memoria, la expresión "anticuerpo humano recombinante" incluye anticuerpos humanos que son aislados, preparados, expresados o creados por medios recombinantes, tales como anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante transfectado a una célula anfitriona, anticuerpos aislados de una biblioteca de anticuerpos humanos combinatorios recombinantes, anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón, un conejo, una cabra o una vaca) que es transgénico y/o transcrómico para genes de inmunoglobulina humana (véase, por ejemplo, Taylor, L. D. et al. (1992) *Nucl. Acids Res.* 20:6287-6295) o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique la creación, por ejemplo, mediante síntesis, ingeniería genética de secuencias de ADN que codifican secuencias de inmunoglobulina humana, o el empalme de secuencias que codifican inmunoglobulinas humanas —por ejemplo, secuencias de genes de inmunoglobulina humana— en otras secuencias tales. Tales anticuerpos humanos recombinantes pueden tener regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. En ciertas realizaciones, las secuencias de aminoácidos de tales anticuerpos humanos recombinantes han sido modificadas de tal forma que las secuencias de aminoácidos de las regiones VH y/o VL de los anticuerpos recombinantes sean secuencias que, aunque se deriven de secuencias VH y VL de la línea germinal humana y estén relacionadas con las mismas, no existen de forma natural dentro del repertorio de líneas germinales de anticuerpos humanos *in vivo*. Como ejemplo no limitante, se puede obtener un anticuerpo humano recombinante ensamblando varios fragmentos de secuencias humanas en una secuencia humana compuesta de un anticuerpo humano recombinante.
30
35
40
45

- Según son usadas en la presente memoria, las expresiones "región variable" o "dominio variable" se refieren a una porción de un anticuerpo, generalmente una porción de una cadena ligera o pesada, normalmente aproximadamente los 110 a 120 aminoácidos amino terminales en la cadena pesada madura y aproximadamente 90 a 100 aminoácidos en la cadena ligera madura, que difieren mucho en secuencia entre anticuerpos y son usados en la unión y la especificidad de un anticuerpo particular para su antígeno particular. La variabilidad en secuencia se concentra en las regiones denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), mientras que las regiones más altamente conservadas en el dominio variable se denominan regiones marco (FR). Sin desear estar circunscritos a ningún mecanismo particular ni a ninguna teoría, se cree que las CDR de las cadenas ligera y pesada son principalmente responsables de la interacción del anticuerpo con el antígeno. En una realización específica, la numeración de posiciones de aminoácidos de los anticuerpos descritos en la presente memoria es según el Índice EU, como en Kabat et al. (1991), *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª edición (U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 ("Kabat et al.")). En ciertos aspectos, las CDR de un anticuerpo pueden ser determinadas según (i) el esquema de numeración de Chothia, al que se hará referencia en la presente memoria como las "CDR de Chothia" (véanse, por ejemplo, Chothia y Lesk, 1987, *J. Mol. Biol.*, 196:901-917; Al-Lazikani et al., 1997, *J. Mol. Biol.*, 273:927-948; y la patente estadounidense nº 7.709.226); o (ii) el sistema de numeración IMGT, según se describe, por ejemplo, en Lefranc, M.-P., 1999, *The Immunologist*, 7:132-136 y en
50
55
60

Lefranc, M.-P. et al., 1999, *Nucleic Acids Res.*, 27:209-212. En ciertas realizaciones, la región variable es una región variable humana. En ciertas realizaciones, la región variable comprende CDR de roedores o murinas y regiones marco (FR) humanas. En realizaciones particulares, la región variable es una región variable de primate (por ejemplo, un primate no humano). En ciertas realizaciones, la región variable comprende CDR de roedores o murinas y regiones marco (FR) de primate (por ejemplo, un primate no humano). Como ejemplo no limitante, se obtiene una región variable descrita en la presente memoria ensamblando dos o más fragmentos de secuencias humanas creando una secuencia humana compuesta.

En aspectos específicos, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos (incluyendo fragmentos de unión a antígeno de los mismos), tales como anticuerpos humanizados, que se unen inmuno-específicamente a una región D4 del KIT humano y a una región D4/D5 del KIT, por ejemplo, del KIT humano. Los residuos de aminoácido V308 a H515 (SEQ ID NO: 73) de las Figuras 1 y 2 representan una región ejemplar D4/D5 del KIT humano, y los aminoácidos K310 a N410 (SEQ ID NO: 15), representados en las Figuras 1 y 2, representan una región ejemplar D4 del KIT humano. En otra realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) se une inmuno-específicamente a un dominio D5 del KIT, por ejemplo, del KIT humano, con menor afinidad que a un dominio D4 del KIT, por ejemplo, del KIT humano. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) se une inmuno-específicamente a un dominio D4 del KIT, por ejemplo, del KIT humano, con mayor afinidad que a un dominio D5 del KIT, por ejemplo, del KIT humano; por ejemplo, la mayor afinidad es al menos 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces, 500 veces o 1000 veces, determinada por métodos conocidos en la técnica; por ejemplo, ensayos ELISA o Biacore.

En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) se une inmuno-específicamente a una región D4 o D4/D5 del KIT, por ejemplo, del KIT humano, y tiene mayor afinidad hacia un antígeno de KIT que consista en esencia únicamente en un dominio D4 que hacia un antígeno de KIT que consista en esencia únicamente en un dominio D5. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) se une inmuno-específicamente a una región D4 o D4/D5 del KIT, por ejemplo, del KIT humano, y tiene al menos 1 vez, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces o 10 veces mayor afinidad hacia un antígeno de KIT que consista en esencia únicamente en un dominio D4 que hacia un antígeno de KIT que consista en esencia únicamente en un dominio D5. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) se une inmuno-específicamente a una región D4 o D4/D5 del KIT, por ejemplo, del KIT humano, y tiene mayor afinidad de unión (por ejemplo, una afinidad aproximadamente de 2 veces a 3 veces mayor) hacia un antígeno de KIT que consista en esencia únicamente en un dominio D4 o únicamente en una región D4/D5 que hacia un antígeno de KIT que consista en esencia únicamente en un dominio D5.

En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) se une inmuno-específicamente a un antígeno de KIT que comprende o consiste esencialmente en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15. En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) se une inmuno-específicamente a un dominio D4 del KIT, por ejemplo, del KIT humano. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria se une inmuno-específicamente a un antígeno de KIT que comprende o consiste esencialmente en una región D4 del KIT humano. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) se une inmuno-específicamente a un antígeno de KIT que comprende o consiste esencialmente en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14 o 73.

En aspectos particulares, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, a una región D4 de KIT, por ejemplo, del KIT humano, por ejemplo, la SEQ ID NO: 15 [una secuencia D4 humana]) y comprenden una secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria.

En aspectos específicos, en la presente memoria se describen anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos humanos o humanizados), incluyendo fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que comprenden:

- (i) CDR VH de un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31 (QVQLKQSGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVKQRPGQGLEWIRIYPG SGNTYYNEKFKGKATLTAEKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGVYFDYWGQ GTTLTVSS) o SEQ ID NO: 69 (QVQLKQSGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVKQRPGQGLEWIRIYPG SGNTYYNEKFKGKATLTAEKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGVYFDYWGQ GTTLTVSA), y
- (ii) CDR VL de un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 32 (DIVMTQSQKFMSTSVGDRVS VTCKASQNVRTNVAWYQKPGQSPKALIYSASYRYSQVDPDRFTGSGSGTDFTLTI SNVQSEDLADYFCQYNSYPRTFGGGTKLEIKR).

En una realización específica, un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT

humano), comprende las CDR VH (SEQ ID NOs: 16-18) y las CDR VL (SEQ ID NOs: 19-21) descritas en la Tabla 1. En una realización específica, un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) descrito en la presente memoria, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende las CDR VH y las CDR VL descritas en la Tabla 2 (por ejemplo, el conjunto 1 o el conjunto 2).

5 En cierta realización, un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) descrito en la presente memoria, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende las CDR VH y las CDR VL descritas en la Tabla 3 (CDR de AbM o CDR de contacto).

Tabla 1: Secuencias de aminoácidos de CDR

	secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:
CDR1 VL	KASQNVRTNVA	19
CDR2 VL	SASYRYS	20
CDR3 VL	QQYNSYPRT	21
CDR1 VH	DYYIN	16
CDR2 VH	RIYPGSGNTYYNEKFKG	17
CDR3 VH	GVYYFDY	18

Tabla 2: Secuencias de aminoácidos de CDR

	Conjunto 1		Conjunto 2	
	secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:	secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:
CDR1 VL	KASQNVRTNVA	19	SQNVRTN	59
CDR2 VL	SASYRYS	20	SAS	60
CDR3 VL	QQYNSYPRT	21	YNSYPR	61
CDR1 VH	GYTFTDY	56	GYTFTDY	56
CDR2 VH	YPGSGN	57	PGSG	62
CDR3 VH	GVYYFDYW	58	VYYFDY	63

Tabla 3: Secuencias de aminoácidos de CDR

	AbM		Contacto	
	secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:	secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:
CDR1 VL	KASQNVRTNVA	19	RTNVAWY	66
CDR2 VL	SASYRYS	20	ALIYSASYRY	67
CDR3 VL	QQYNSYPRT	21	QQYNSYPR	68
CDR1 VH	GYTFTDYYIN	64	TDYYIN	70
CDR2 VH	RIYPGSGNTY	65	WIARIYPGSGNTY	71
CDR3 VH	GVYYFDYW	58	ARGVYYFDY	72

Tabla 4: Dominios VL y VH de los anticuerpos Hum1-20

Dominio VH ►	H1	H2	H3	H4	H5
Dominio VL ▼	(SEQ ID NO: 2)	(SEQ ID NO: 3)	(SEQ ID NO: 4)	(SEQ ID NO: 5)	(SEQ ID NO: 6)
L1 (SEQ ID NO: 7)	Hum1	Hum2	Hum3	Hum4	Hum5
L2 (SEQ ID NO: 8)	Hum6	Hum7	Hum8	Hum9	Hum10
L3 (SEQ ID NO: 9)	Hum11	Hum12	Hum13	Hum14	Hum15

Dominio VH ►	H1	H2	H3	H4	H5
Dominio VL ▼	(SEQ ID NO: 2)	(SEQ ID NO: 3)	(SEQ ID NO: 4)	(SEQ ID NO: 5)	(SEQ ID NO: 6)
L4 (SEQ ID NO: 10)	Hum16	Hum17	Hum18	Hum19	Hum20

En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporcionan dominios VH (por ejemplo, H1, H2, H3, H4 y H5, que comprenden las SEQ ID NOs: 2-6, respectivamente) y dominios VL (por ejemplo, L1, L2, L3 y L4, que comprenden las SEQ ID NOs: 7-10, respectivamente). En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos que comprenden tales dominios VH y VL, según se define, por ejemplo, en la Tabla 4 (es decir, anticuerpos Hum1-Hum20). En realizaciones particulares, estos anticuerpos comprenden las CDR VH 1-3 y las CDR VL 1-3 que comprenden las SEQ ID NOs: 16-18 y 19-21, respectivamente.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región de cadena ligera variable (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria; por ejemplo, una cualquiera de las SEQ ID NOs: 7-10 (véanse, por ejemplo, las Figuras 3F-3I) o la SEQ ID NO: 12.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región de cadena pesada variable (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria; por ejemplo, una cualquiera de las SEQ ID NOs: 2-6 (véanse, por ejemplo, las Figuras 3A-3E) o la SEQ ID NO: 11.

Por ejemplo, en la presente memoria se describe un anticuerpo que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano) y comprende (i) el dominio VH H1 (SEQ ID NO: 2), H2 (SEQ ID NO: 3), H3 (SEQ ID NO: 4), H4 (SEQ ID NO: 5) o H5 (SEQ ID NO: 6) y/o (ii) el dominio VL L1 (SEQ ID NO: 7), L2 (SEQ ID NO: 8), L3 (SEQ ID NO: 9) o L4 (SEQ ID NO: 10). En un ejemplo particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, puede unirse inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano) y comprender un dominio VH y/o un dominio VL de uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20 (véase la Tabla 4). En un ejemplo particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un dominio VH y/o un dominio VL de uno cualquiera de los anticuerpos Hum4, Hum8, Hum10 o Hum17.

En una realización particular, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H1 (SEQ ID NO: 2) y L1 (SEQ ID NO: 7). En una realización particular, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H1 (SEQ ID NO: 2) y L2 (SEQ ID NO: 8). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H1 (SEQ ID NO: 2) y L3 (SEQ ID NO: 9). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H1 (SEQ ID NO: 2) y L4 (SEQ ID NO: 10). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H2 (SEQ ID NO: 3) y L1 (SEQ ID NO: 7). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H2 (SEQ ID NO: 3) y L2 (SEQ ID NO: 8). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H2 (SEQ ID NO: 3) y L3 (SEQ ID NO: 9). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H2 (SEQ ID NO: 3) y L4 (SEQ ID NO: 10). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H3 (SEQ ID NO: 4) y L1 (SEQ ID NO: 7). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H3 (SEQ ID NO: 4) y L2 (SEQ ID NO: 8). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H3 (SEQ ID NO: 4) y L3 (SEQ ID NO: 9). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H3 (SEQ ID NO: 4) y L4 (SEQ ID NO: 10). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H4 (SEQ ID NO: 5) y L1 (SEQ ID NO: 7). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H4 (SEQ ID NO: 5) y L2 (SEQ ID NO: 8). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H4 (SEQ ID NO: 5) y L3 (SEQ ID NO: 9). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H4 (SEQ ID NO: 5) y L4 (SEQ ID NO: 10). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H5 (SEQ ID NO: 6) y L1 (SEQ ID NO: 7). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H5 (SEQ ID NO: 6) y L2 (SEQ ID NO: 8). En una realización específica, un anticuerpo, que se une

inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H5 (SEQ ID NO: 6) y L3 (SEQ ID NO: 9). En una realización específica, un anticuerpo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende H5 (SEQ ID NO: 6) y L4 (SEQ ID NO: 10).

En ciertos aspectos, un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, es no inmunogénico en un ser humano. En una realización particular, una secuencia de aminoácidos no inmunogénica está desprovista de epítomos que han sido identificados como enlazadores con moléculas humanas MHC de clase II; por ejemplo, epítomos que son enlazadores de líneas germinales no humanas con moléculas humanas MHC de clase II; en una realización particular, secuencias de aminoácidos sustancialmente desprovistas de epítomos que han sido identificados como enlazadores con moléculas humanas MHC de clase II —por ejemplo, epítomos que son enlazadores de líneas germinales no humanas con moléculas humanas MHC de clase II—. Por ejemplo, se han desarrollado herramientas *in silico* para identificar la ubicación de epítomos de las células tanto B como T y para evaluar el potencial de inmunogenicidad, y tales herramientas proporcionan una alternativa a los ensayos de inmunogenicidad *in vitro* o *in vivo*. Por ejemplo, se han desarrollado métodos informatizados de predicción de epítomos y bases de datos mantenidas manualmente que contienen datos de epítomos deducidos experimentalmente (véase Bryson et al., *Biodrugs*, 2010, 24(1): 1-8). Ejemplos no limitantes de bases de datos de epítomos incluyen la Immune Epitope Database (IEDB) y la patentada T Cell Epitope Database™ (TCED™). Tales bases de datos de epítomos pueden ser usadas solas o en combinación con ensayos *in vitro* descritos en la técnica; por ejemplo, ensayos de unión al MHC de clase II y ensayos de activación o proliferación de células T. Alternativamente, tales ensayos *in vitro* pueden ser usados independientemente de tales bases de datos de epítomos. En la técnica se han descrito métodos para determinar la inmunogenicidad de un agente, tal como un anticuerpo, o para eliminar o reducir la inmunogenicidad de un agente, tal como un anticuerpo; véanse, por ejemplo, Altschul et al., *Nucleic Acids Res.*, 1997, 25:3389-3402; Baker et al., *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.*, 2007, 10:219; Hill et al., *Arthritis Res. Ther.*, 2003, 1:R40-R48; Jones et al., *J. Thromb. Haemost.*, 2005, 3:991-1000; Holgate et al., *IDrugs*, 2009, 12:233-237; Jones et al., *Methods Mol. Biol.*, 2009, 525:405-423; y Baker et al., *Curr. Drug Saf.*, 2010, 5:308-313. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria que se une inmunoespecíficamente a una región D4 del KIT humano comprende un dominio VH y un dominio VL que no son inmunogénicos, según determina la T Cell Epitope Database™ (TCED™). En cierta realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria se une inmunoespecíficamente a una región D4 del KIT humano, y comprende un dominio VH y un dominio VL que no son inmunogénicos, según se determina en un ensayo *in vitro* descrito en la técnica; véanse, por ejemplo, Wang et al., 2008, *PLoS Computational Biology*, 2008, 4(4):e1000048; y Arnold et al., 2002, *J. Immunol.*, 169:739-749.

En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende un dominio VH que tiene una identidad de secuencias de al menos un 93% con respecto a H1 (SEQ ID NO: 2). En una realización particular, un anticuerpo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH que tiene una identidad de secuencias de al menos el 94%, o al menos el 95%, o al menos el 96%, o al menos el 97%, o al menos el 98% o al menos el 99% con respecto a H1 (SEQ ID NO: 2). En una realización particular, el dominio VH es no inmunogénico, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende un dominio VH que tiene una identidad de secuencias de al menos un 92% con respecto a H2 (SEQ ID NO: 3). En una realización particular, un anticuerpo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un dominio VH que tiene una identidad de secuencias de al menos el 93%, al menos el 94%, o al menos el 95%, o al menos el 96%, o al menos el 97%, o al menos el 98% o al menos el 99% con respecto a H2 (SEQ ID NO: 3). En una realización particular, el dominio VH es no inmunogénico, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende un dominio VH que tiene una identidad de secuencias de al menos un 90% con respecto a H3 (SEQ ID NO: 4). En una realización particular, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH que tiene una identidad de secuencias de al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, o al menos el 95%, o al menos el 96%, o al menos el 97%, o al menos el 98% o al menos el 99% con respecto a H3 (SEQ ID NO: 4). En una realización particular, el dominio VH es no inmunogénico, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de

epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

- 5 En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende un dominio VH que tiene una identidad de secuencias de al menos un 87% con respecto a H4 (SEQ ID NO: 5). En una realización particular, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH
10 que tiene una identidad de secuencias de al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, o al menos el 95%, o al menos el 96%, o al menos el 97%, o al menos el 98% o al menos el 99% con respecto a H4 (SEQ ID NO: 5). En una realización particular, el dominio VH es no inmunogénico, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio
15 VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

- En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende un dominio VH que tiene una identidad de secuencias de al menos un 86% con respecto a H5 (SEQ ID
20 NO: 6). En una realización particular, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH que tiene una identidad de secuencias de al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, o al menos el 95%, o al menos el 96%, o al menos el 97%, o al menos el 98% o al menos el 99% con respecto a H5 (SEQ ID NO: 6). En una realización particular, el dominio VH es no inmunogénico, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de
25 epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

- En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende un dominio VL que tiene una identidad de secuencias de al menos un 90% con respecto a L1 (SEQ ID
30 NO: 7). En una realización particular, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que tiene una identidad de secuencias de al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, o al menos el 95%, o al menos el 96%, o al menos el 97%, o al menos el 98% o al menos el 99% con respecto a L1 (SEQ ID NO: 7). En una realización particular, el dominio VL es no inmunogénico, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de
35 epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 19-21, respectivamente.
40

- En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende un dominio VL que tiene una identidad de secuencias de al menos un 88% con respecto a L2 (SEQ ID
45 NO: 8). En una realización particular, un anticuerpo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que tiene una identidad de secuencias de al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, o al menos el 95%, o al menos el 96%, o al menos el 97%, o al menos el 98% o al menos el 99% con respecto a L2 (SEQ ID NO: 8). En una realización particular, el dominio VL es no inmunogénico, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo
50 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 19-21, respectivamente.

- En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende un dominio VL que tiene una identidad de secuencias de al menos un 87% con respecto a L3 (SEQ ID
55 NO: 9). En una realización particular, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que tiene una identidad de secuencias de al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, o al menos el 95%, o al menos el 96%, o al menos el 97%, o al menos el 98% o al menos el 99% con respecto a L3 (SEQ ID NO: 9). En una realización particular, el dominio VL es no inmunogénico, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de
60 epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio

VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 19-21, respectivamente.

En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende un dominio VL que tiene una identidad de secuencias de al menos un 84% con respecto a L4 (SEQ ID NO: 10). En una realización particular, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que tiene una identidad de secuencias de al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, o al menos el 95%, o al menos el 96%, o al menos el 97%, o al menos el 98% o al menos el 99% con respecto a L4 (SEQ ID NO: 10). En una realización particular, el dominio VL es no inmunogénico, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 19-21, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 93%, o al menos el 95% con respecto a H1 (SEQ ID NO: 2); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 90%, o al menos el 92% con respecto a L1 (SEQ ID NO: 7). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 92%, o al menos el 94% con respecto a H2 (SEQ ID NO: 3); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 90%, o al menos el 92% con respecto a L1 (SEQ ID NO: 7). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 90%, o al menos el 92% con respecto a H3 (SEQ ID NO: 4); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 90%, o al menos el 92% con respecto a L1 (SEQ ID NO: 7). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 87%, o al menos el 90% con respecto a H4 (SEQ ID NO: 5); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 90%, o al menos el 92% con respecto a L1 (SEQ ID NO: 7). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un

polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 86%, o al menos el 88% con respecto a H5 (SEQ ID NO: 6); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 90%, o al menos el 92% con respecto a L1 (SEQ ID NO: 7). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 93%, o al menos el 95% con respecto a H1 (SEQ ID NO: 2); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 88%, o al menos el 90% con respecto a L2 (SEQ ID NO: 8). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 92%, o al menos el 94% con respecto a H2 (SEQ ID NO: 3); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 88%, o al menos el 90% con respecto a L2 (SEQ ID NO: 8). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 90%, o al menos el 92% con respecto a H3 (SEQ ID NO: 4); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 88%, o al menos el 90% con respecto a L2 (SEQ ID NO: 8). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 87%, o al menos el 90% con respecto a H4 (SEQ ID NO: 5); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 88%, o al menos el 90% con respecto a L2 (SEQ ID NO: 8). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 86%, o al menos el 88% con respecto a H5 (SEQ ID NO: 6); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 88%, o al menos el 90% con respecto a L2 (SEQ ID NO: 8). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el

MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 93%, o al menos el 95% con respecto a H1 (SEQ ID NO: 2); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 87%, o al menos el 90% con respecto a L3 (SEQ ID NO: 9). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 92%, o al menos el 94% con respecto a H2 (SEQ ID NO: 3); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 87%, o al menos el 90% con respecto a L3 (SEQ ID NO: 9). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 90%, o al menos el 92% con respecto a H3 (SEQ ID NO: 4); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 87%, o al menos el 90% con respecto a L3 (SEQ ID NO: 9). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 87%, o al menos el 90% con respecto a H4 (SEQ ID NO: 5); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 87%, o al menos el 90% con respecto a L3 (SEQ ID NO: 9). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 86%, o al menos el 88% con respecto a H5 (SEQ ID NO: 6); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 87%, o al menos el 90% con respecto a L3 (SEQ ID NO: 9). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un

polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 93%, o al menos el 95% con respecto a H1 (SEQ ID NO: 2); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 84%, o al menos el 86% con respecto a L4 (SEQ ID NO: 10). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 92%, o al menos el 94% con respecto a H2 (SEQ ID NO: 3); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 84%, o al menos el 86% con respecto a L4 (SEQ ID NO: 10). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 90%, o al menos el 92% con respecto a H3 (SEQ ID NO: 4); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 84%, o al menos el 86% con respecto a L4 (SEQ ID NO: 10). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 87%, o al menos el 90% con respecto a H4 (SEQ ID NO: 5); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 84%, o al menos el 86% con respecto a L4 (SEQ ID NO: 10). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 86%, o al menos el 88% con respecto a H5 (SEQ ID NO: 6); y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencias de al menos el 84%, o al menos el 86% con respecto a L4 (SEQ ID NO: 10). En una realización particular, los dominios VL y VH son no inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II. En cierta realización, tal anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VL 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 19-21, respectivamente, y las CDR VH 1-3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente.

Para determinar la identidad porcentual de dos secuencias de aminoácidos o de dos secuencias de ácidos nucleicos, las secuencias son alineadas con fines de comparación óptima (por ejemplo, pueden introducirse huecos en la secuencia de un primer aminoácido o de una primera secuencia de ácidos nucleicos para su alineamiento óptimo con una segunda secuencia de aminoácidos o de ácidos nucleicos. A continuación, se comparan los residuos de aminoácido o los nucleótidos en las correspondientes posiciones de aminoácidos o las posiciones de nucleótidos. Entonces, cuando una posición de la primera secuencia está ocupada por el mismo residuo de aminoácido o nucleótido que la correspondiente posición de la segunda secuencia, las moléculas son idénticas en esa posición. La identidad porcentual entre las dos secuencias es una función del número de posiciones idénticas compartidas por las

secuencias (es decir, % de identidad = número de posiciones superpuestas idénticas/número total de posiciones × 100%). En una realización, las dos secuencias son de la misma longitud. En cierta realización, la identidad porcentual se determina en toda la longitud de una secuencia de aminoácidos o una secuencia de nucleótidos.

También se puede lograr la determinación de identidad porcentual entre dos secuencias (por ejemplo, secuencias de aminoácidos o secuencias de ácidos nucleicos) usando un algoritmo matemático. Un ejemplo preferente no limitante de algoritmo matemático utilizado para la comparación de dos secuencias es el algoritmo de Karlin y Altschul, 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87:2264 2268, modificado como en Karlin y Altschul, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:5873 5877. Tal algoritmo está incorporado en los programas NBLAST y XBLAST de Altschul et al., 1990, *J. Mol. Biol.* 215:403. Las búsquedas de nucleótidos con BLAST se pueden llevar a cabo con los parámetros del programa de nucleótidos NBLAST puestos, por ejemplo, a puntuación=100, longitud_de_palabra=12 para obtener secuencias de nucleótidos homólogas a las moléculas de ácidos nucleicos descritas en la presente memoria. Las búsquedas de proteínas con BLAST se pueden llevar a cabo con los parámetros del programa de nucleótidos XBLAST puestos, por ejemplo, a puntuación 50, longitud_de_palabra=3 para obtener secuencias de aminoácidos homólogas a la molécula proteínica descrita en la presente memoria. Para obtener alineamientos con huecos con fines de comparación, puede utilizarse Gapped BLAST según se describe en Altschul et al., 1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389 3402. Alternativamente, puede usarse PSI BLAST para efectuar una búsqueda iterada que detecte relaciones distantes entre moléculas (*id.*). Cuando se utilizan los programas BLAST, Gapped BLAST y PSI Blast, pueden usarse los parámetros por defecto de los respectivos programas (por ejemplo, de XBLAST y NBLAST) (véase, por ejemplo, National Center for Biotechnology Information (NCBI) en Internet, ncbi.nlm.nih.gov). Otro ejemplo preferente no limitante de un algoritmo matemático utilizado para la comparación de secuencias es el algoritmo de Myers y Miller, 1988, *CABIOS* 4:11 17. Tal algoritmo está incorporado en el programa ALIGN (versión 2.0), que es parte del paquete de soporte lógico de alineamiento de secuencias GCG. Cuando se utiliza el programa ALIGN para comparar secuencias de aminoácidos, pueden usarse una tabla de residuos de peso PAM120, una penalización de longitud de hueco de 12, y una penalización de hueco de 4.

La identidad porcentual entre dos secuencias puede determinarse usando técnicas similares a las recién descritas, permitiendo huecos o no. En el cálculo de la identidad porcentual, normalmente solo se cuentan las coincidencias exactas.

En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende: (i) un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente, y una, dos, tres o cuatro regiones marco de H1, H2, H3, H4 o H5 (véase la Tabla 5A); y/o (ii) un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 19-21, respectivamente, y una, dos, tres o cuatro regiones marco de L1, L2, L3 o L4 (véase la Tabla 5B).

En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente, y una región marco FR1 de H1, H2, H3, H4 o H5. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente, y una región marco FR2 de H1, H2, H3, H4 o H5. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente, y una región marco FR3 de H1, H2, H3, H4 o H5. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente, y una región marco FR4 de H1, H2, H3, H4 o H5.

En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente, y regiones marco FR1 y FR2 de H1, H2, H3, H4 o H5. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente, y regiones marco FR1, FR2 y FR3 de H1, H2, H3, H4 o H5. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente, y regiones marco FR1, FR2, FR3 y FR4 de H1, H2, H3, H4 o H5.

5 en la presente memoria, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 16-18, respectivamente, y regiones marco FR1, FR3 y FR4 de H1, H2, H3, H4 o H5.

10 polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 16-18, respectivamente, y regiones marco FR1 y FR4 de H1, H2, H3, H4 o H5.

15 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 16-18, respectivamente, y regiones marco FR1, FR2 y FR4 de H1, H2, H3, H4 o H5.

20 SEQ ID NOs: 16-18, respectivamente, y regiones marco FR2 y FR3 de H1, H2, H3, H4 o H5. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 16-18, respectivamente, y regiones marco FR2, FR3 y FR4 de H1, H2, H3, H4 o H5.

25 En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 16-18, respectivamente, y regiones marco FR3 y FR4 de H1, H2, H3, H4 o H5.

30 polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente, y una región marco FR1 de L1, L2, L3 o L4. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente, y una región marco FR2 de L1, L2, L3 o L4. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente, y una región marco FR3 de L1, L2, L3 o L4. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente, y una región marco FR4 de L1, L2, L3 o L4.

45 En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21 respectivamente, y regiones marco FR1 y FR2 de L1, L2, L3 o L4. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente, y regiones marco FR1, FR2 y FR3 de L1, L2, L3 o L4. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente, y regiones marco FR1, FR2, FR3 y FR4 de L1, L2, L3 o L4.

55 En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente, y regiones marco FR1 y FR3 de L1, L2, L3 o L4. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden

60

las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente, y regiones marco FR1, FR3 y FR4 de L1, L2, L3 o L4.

En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente, y regiones marco FR1 y FR4 de L1, L2, L3 o L4.

En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente, y regiones marco FR1, FR2 y FR4 de L1, L2, L3 o L4.

En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente, y regiones marco FR2 y FR3 de L1, L2, L3 o L4. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente, y regiones marco FR2, FR3 y FR4 de L1, L2, L3 o L4.

En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente, y regiones marco FR3 y FR4 de L1, L2, L3 o L4.

En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende: (i) un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 16-18, respectivamente, y regiones marco FR1-FR4 de uno cualquiera de los dominios VH HH257-HH281 (véase la Tabla 5C); y (ii) un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 19-21, respectivamente, y FR1-FR4 de uno cualquiera de los dominios VL LL65-LL76 (véase la Tabla 5D).

En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende: (i) un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden una combinación de secuencias de aminoácidos definidas en la Tabla 2 o 3, y regiones marco FR1-FR4 de uno cualquiera de los dominios VH H1-H5 (Tabla 5A) y HH257-HH281 (véase la Tabla 5C); y (ii) un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden una combinación de secuencias de aminoácidos definidas ya sea en la Tabla 2 (conjunto 1 o conjunto 2) o en la 3 (las CDR de AbM o de contacto), respectivamente, y FR1-FR4 de uno cualquiera de los dominios VL L1-L4 (Tabla 5B) y LL65-LL76 (véase la Tabla 5D).

En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende: (i) un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden una combinación de secuencias de aminoácidos definidas en la Tabla 2 o 3, y correspondientes regiones marco FR1-FR4 que comprenden secuencias que flanquean las CDR VH, según se representa, por ejemplo, en una cualquiera de las Figuras 3A-3I; y (ii) un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden una combinación de secuencias de aminoácidos definidas ya sea en la Tabla 2 (conjunto 1 o conjunto 2) o en la 3 (las CDR de AbM o de contacto), respectivamente, y correspondientes regiones marco FR1-FR4 que comprenden secuencias que flanquean las CDR VL, según se representa, por ejemplo, en una cualquiera de las Figuras 3A-3I.

Tabla 5A: Regiones marco (FR) del dominio VH

	FR1 VH	FR2 VH	FR3 VH	FR4 VH
H1	QVQLVQSGAELK KPGASVKLSCKA SGYTFT (SEQ ID NO: 33)	WVKQAPGKGL WIA (SEQ ID NO: 34)	RATLTAEKSTSTA YMQLSLRSEDS AVYFCAR (SEQ ID NO: 35)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 36)

	FR1 VH	FR2 VH	FR3 VH	FR4 VH
H2	QVQLVQSGAEVK KPGASVKLSCKA SGYTFT (SEQ ID NO: 37)	WVKQAPGKGLE WIA (SEQ ID NO: 34)	RATLTAEKSTSTA YMQLSLRSED AVYFCAR (SEQ ID NO: 38)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 36)
H3	QVQLVQSGAEVK KPGASVKLSCKA SGYTFT (SEQ ID NO: 37)	WVRQAPGKGLE WIA (SEQ ID NO: 39)	RATLTADKSTST AYMQLSLRSED TAVYFCAR (SEQ ID NO: 40)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 36)
H4	QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCA SGYTFT (SEQ ID NO: 41)	WVRQAPGKGLE WIA (SEQ ID NO: 39)	RATITADKSTSTA YMESSLRSEDTA VYFCAR (SEQ ID NO: 42)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 36)
H5	QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCA SGYTFT (SEQ ID NO: 41)	WVRQAPGKGLE WIA (SEQ ID NO: 39)	RVTITADKSTSTA YMESSLRSEDTA VYFCAR (SEQ ID NO: 43)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 36)

Tabla 5B: Regiones marco (FR) del dominio VL

	FR1 VL	FR2 VL	FR3 VL	FR4 VL
L1	DIVMTQSPSFLSAS VGDRVITC (SEQ ID NO: 44)	WYQQKPGKAPKA LIY (SEQ ID NO: 45)	GVPDRFTGSGSGTD FTLTISLQSEDFAD YFC (SEQ ID NO: 46)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 47)
L2	DIVMTQSPSSLAS VGDRVITC (SEQ ID NO: 48)	WYQQKPGKAPKA LIY (SEQ ID NO: 45)	GVPDRFTGSGSGTD FTLTISLQPEDFAD YFC (SEQ ID NO: 49)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 47)
L3	DIVMTQSPSSLAS VGDRVITC (SEQ ID NO: 48)	WYQQKPGKAPKA LIY (SEQ ID NO: 45)	GVPDRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFAD YFC (SEQ ID NO: 50)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 47)
L4	DIVMTQSPSSLAS VGDRVITC (SEQ ID NO: 48)	WYQQKPGKAPKS LIY (SEQ ID NO: 51)	GVPDRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFAT YYC (SEQ ID NO: 52)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 47)

Tabla 5C: Secuencias de región marco de los dominios VH HH257 a HH281

Dominio VH	FR1 VH	FR2 VH	FR3 VH	FR4 VH
HH257	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 36
HH258	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 36
HH259	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 36
HH260	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 40	SEQ ID NO: 36
HH261	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 40	SEQ ID NO: 36
HH262	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 36
HH263	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 36
HH264	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 36
HH265	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 36
HH266	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 36
HH267	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 36
HH268	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 36
HH269	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 40	SEQ ID NO: 36
HH270	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 36
HH271	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 36
HH272	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 36
HH273	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 36
HH274	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 36
HH275	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 36
HH276	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 36
HH277	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 36
HH278	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 40	SEQ ID NO: 36
HH279	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 40	SEQ ID NO: 36
HH280	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 36
HH281	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 36

Tabla 5D: Secuencias de región marco de los dominios VL LL65 a LL76

Dominio VL	FR1 VL	FR2 VL	FR3 VL	FR4 VL
LL65	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 46	SEQ ID NO: 47
LL66	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 45	SEQ ID NO: 49	SEQ ID NO: 47
LL67	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 49	SEQ ID NO: 47
LL68	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 45	SEQ ID NO: 50	SEQ ID NO: 47
LL69	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 50	SEQ ID NO: 47
LL70	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 45	SEQ ID NO: 52	SEQ ID NO: 47
LL71	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 52	SEQ ID NO: 47
LL72	SEQ ID NO: 48	SEQ ID NO: 45	SEQ ID NO: 46	SEQ ID NO: 47
LL73	SEQ ID NO: 48	SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 46	SEQ ID NO: 47
LL74	SEQ ID NO: 48	SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 49	SEQ ID NO: 47
LL75	SEQ ID NO: 48	SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 50	SEQ ID NO: 47

Dominio VL	FR1 VL	FR2 VL	FR3 VL	FR4 VL
LL76	SEQ ID NO: 48	SEQ ID NO: 45	SEQ ID NO: 52	SEQ ID NO: 47

En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende: (i) un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos:

5 QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPGKGLEWIARIYPGS
 GNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LSSLRSEDX_{H8}AVYFCARGVYFDYW GQGTTVTVSS
 (SEQ ID NO: 11), seleccionándose independientemente X_{H1} en la posición Kabat 11, X_{H2} en la posición
 Kabat 20, X_{H3} en la posición Kabat 38, X_{H4} en la posición Kabat 67, X_{H5} en la posición Kabat 69, X_{H6} en la
 posición Kabat 72, X_{H7} en la posición Kabat 81, y X_{H8} en la posición Kabat 87 de cualquier aminoácido; y/o
 10 (ii) un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos
 DIVMTQSPSX_{K1}LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_{K2}LIYSASYRYS
 VPDRFX_{K3}SGSGTDFTLTISLQX_{K4}DFAX_{K5}YX_{K6}CQQYNSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 12),
 seleccionándose independientemente X_{K1} en la posición Kabat 10, X_{K2} en la posición Kabat 46, X_{K3} en la
 posición Kabat 63, X_{K4} en la posición Kabat 80, X_{K5} en la posición Kabat 85, y X_{K6} en la posición Kabat 87
 15 de cualquier aminoácido. En una realización particular, el dominio VH y/o el VL son no inmunogénicos,
 según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de clase II; por ejemplo,
 enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II.

En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo, que se une inmunoespecíficamente
 a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), que comprende: (i) un dominio VH que comprende
 20 la secuencia de aminoácidos:

QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPGKGLEWIARIYPGS
 GNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LSSLRSEDX_{H8}AVYFCARGVYFDYW GQGTTVTVSS
 (SEQ ID NO: 11), seleccionándose X_{H1} en la posición Kabat 11, X_{H2} en la posición Kabat 20, X_{H3} en la
 posición Kabat 38, X_{H4} en la posición Kabat 67, X_{H5} en la posición Kabat 69, X_{H6} en la posición Kabat 72,
 X_{H7} en la posición Kabat 81, y X_{H8} en la posición Kabat 87 de la combinación de aminoácidos definida en la
 25 Tabla **6B**; y/o (ii) un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos:
 DIVMTQSPSX_{K1}LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_{K2}LIYSASYRYS
 VPDRFX_{K3}SGSGTDFTLTISLQX_{K4}DFAX_{K5}YX_{K6}CQQYNSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 12),
 seleccionándose X_{K1} en la posición Kabat 10, X_{K2} en la posición Kabat 46, X_{K3} en la posición Kabat 63, X_{K4}
 30 en la posición Kabat 80, X_{K5} en la posición Kabat 85, y X_{K6} en la posición Kabat 87 de la combinación de
 aminoácidos definida en la Tabla **6A**. En una realización particular, el dominio VH y/o el VL son no
 inmunogénicos, según se determina, por ejemplo, por la ausencia de epítomos que se unan al MHC de
 clase II; por ejemplo, enlazadores de líneas germinales no humanas con el MHC de clase II.

En una realización, X_{H1} en la posición Kabat 11 es un aminoácido con una cadena lateral alifática (por ejemplo, un
 35 aminoácido de cadenas ramificadas (BCAA) de cadena lateral hidrófoba o cadena lateral no polar), tal como L o V.
 En una realización, X_{H2} en la posición Kabat 20 es un aminoácido con una cadena lateral alifática (por ejemplo,
 aminoácido de cadenas ramificadas (BCAA) de cadena lateral hidrófoba o cadena lateral no polar), tal como L o V.
 En una realización, X_{H3} en la posición Kabat 38 es un aminoácido con una cadena lateral polar (por ejemplo, una
 cadena lateral hidrófila, una cadena lateral básica o una cadena lateral cargada; por ejemplo, una cadena lateral
 40 cargada positivamente o una cadena lateral cargada negativamente), tal como K o R. En una realización, X_{H4} en la
 posición Kabat 67 es un aminoácido con una cadena lateral alifática (por ejemplo, un aminoácido de cadenas
 ramificadas (BCAA) de cadena lateral hidrófoba o cadena lateral no polar), tal como V o A. En una realización, X_{H5}
 en la posición Kabat 69 es un aminoácido con una cadena lateral alifática (por ejemplo, un aminoácido de cadenas
 ramificadas (BCAA) de cadena lateral hidrófoba o cadena lateral no polar), tal como L o I. En una realización, X_{H6} en
 45 la posición Kabat 72 es un aminoácido con una cadena lateral ácida, tal como E o D. En una realización, X_{H7} en la
 posición Kabat 81 es un aminoácido con una cadena lateral ácida o su derivado amídico, tal como Q (derivado no
 cargado/amídico de E) o E. En una realización, X_{H8} en la posición Kabat 87 es un aminoácido con un grupo hidroxilo
 alifático o una cadena lateral hidrófila, tal como S o T.

En una realización, X_{H1} en la posición Kabat 11 es un aminoácido alifático, tal como un aminoácido de cadenas
 50 ramificadas (BCAA), por ejemplo V; X_{H2} en la posición Kabat 20 es un aminoácido alifático, tal como un aminoácido
 de cadenas ramificadas (BCAA), por ejemplo L; X_{H3} en la posición Kabat 38 es un aminoácido con una cadena
 lateral polar, tal como R; X_{H4} en la posición Kabat 67 es un aminoácido con una cadena lateral alifática, tal como A;
 X_{H5} en la posición Kabat 69 es un aminoácido con una cadena lateral alifática, tal como L; X_{H6} en la posición Kabat
 72 es un aminoácido con una cadena lateral polar, tal como D; X_{H7} en la posición Kabat 81 es un aminoácido con un
 55 derivado amídico de un aminoácido ácido, tal como Q; y X_{H8} en la posición Kabat 87 es un aminoácido con una
 cadena lateral hidroxilo alifática, tal como T.

En una realización, X_{H1} en la posición Kabat 11 es un aminoácido alifático, tal como un aminoácido de cadenas ramificadas (BCAA), por ejemplo V; X_{H2} en la posición Kabat 20 es un aminoácido alifático, tal como un aminoácido de cadenas ramificadas (BCAA), por ejemplo V; X_{H3} en la posición Kabat 38 es un aminoácido con una cadena lateral polar, tal como R; X_{H4} en la posición Kabat 67 es un aminoácido con una cadena lateral alifática, tal como A; X_{H5} en la posición Kabat 69 es un aminoácido con una cadena lateral alifática, tal como I; X_{H6} en la posición Kabat 72 es un aminoácido con una cadena lateral polar, tal como D; X_{H7} en la posición Kabat 81 es un aminoácido ácido, tal como E; y X_{H8} en la posición Kabat 87 es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática, tal como T.

En una realización específica, X_{K1} en la posición Kabat 10 es un aminoácido aromático tal como F o un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática tal como S. En cierta realización, X_{K2} en la posición Kabat 46 es un aminoácido con una cadena lateral alifática (por ejemplo, un aminoácido hidrófobo) tal como A o un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática tal como S. En una realización, X_{K3} en la posición Kabat 63 es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática tal como T o S. En una realización específica, X_{K4} en la posición Kabat 80 es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática tal como S o un aminoácido aromático tal como P. En cierta realización, X_{K5} en la posición Kabat 85 es un aminoácido ácido tal como D o un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática tal como T. En una realización, X_{K6} en la posición Kabat 87 es un aminoácido aromático tal como F o Y.

En una realización específica, X_{K1} en la posición Kabat 10 es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática tal como S; X_{K2} en la posición Kabat 46 es un aminoácido con una cadena lateral alifática (por ejemplo, un aminoácido hidrófobo) tal como A; X_{K3} en la posición Kabat 63 es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática tal como T; X_{K4} en la posición Kabat 80 es un aminoácido aromático, tal como P; X_{K5} en la posición Kabat 85 es un aminoácido ácido tal como D; y X_{K6} en la posición Kabat 87 es un aminoácido aromático tal como F.

En una realización específica, X_{K1} en la posición Kabat 10 es un aminoácido aromático tal como F; X_{K2} en la posición Kabat 46 es un aminoácido con una cadena lateral alifática (por ejemplo, un aminoácido hidrófobo) tal como A; X_{K3} en la posición Kabat 63 es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática tal como T; X_{K4} en la posición Kabat 80 es una cadena lateral hidroxilo alifática tal como S; X_{K5} en la posición Kabat 85 es un aminoácido ácido tal como D; y X_{K6} en la posición Kabat 87 es un aminoácido aromático tal como F.

En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende: (i) un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos:

QVQLVQSGAEX X_{H1} KKPGASVKX X_{H2} SCKASGYTFTDYYINWVX X_{H3} QAPGKGLEWIARIYPGS
GNTYYNEKFKGRX X_{H4} TX X_{H5} TAX X_{H6} KSTSTAYMX X_{H7} LSSLRSEDX X_{H8} AVYFCARGVYFDYW GQGTITVTVSS
(SEQ ID NO: 11), en la que X_{H1} en la posición Kabat 11 es un aminoácido con una cadena lateral alifática tal como V, X_{H2} en la posición Kabat 20 es un aminoácido con una cadena lateral alifática tal como L, X_{H3} en la posición Kabat 38 es un aminoácido con una cadena lateral polar tal como K, X_{H4} en la posición Kabat 67 es un aminoácido con una cadena lateral alifática tal como A, X_{H5} en la posición Kabat 69 es un aminoácido con una cadena lateral alifática tal como L, X_{H6} en la posición Kabat 72 es un aminoácido ácido tal como D, X_{H7} en la posición Kabat 81 es un aminoácido ácido o un derivado amídico del mismo tal como Q, y X_{H8} en la posición Kabat 87 es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática tal como T; y (ii) un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos
DIVMTQSPSX X_{K1} LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPX X_{K2} LIYSASYRYS
VPDRFX X_{K3} GSGSGTDFTLTISLQX X_{K4} DFAX X_{K5} YX X_{K6} CQQYNSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 12), en la que X_{K1} en la posición Kabat 10 es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática tal como S, X_{K2} en la posición Kabat 46 es un aminoácido con una cadena lateral alifática tal como A, X_{K3} en la posición Kabat 63 es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática tal como T, X_{K4} en la posición Kabat 80 es un aminoácido aromático, tal como P, X_{K5} en la posición Kabat 85 es un aminoácido ácido tal como D, y X_{K6} en la posición Kabat 87 es un aminoácido aromático tal como F.

En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende: (i) un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos:

QVQLVQSGAEX X_{H1} KKPGASVKX X_{H2} SCKASGYTFTDYYINWVX X_{H3} QAPGKGLEWIARIYPGS
GNTYYNEKFKGRX X_{H4} TX X_{H5} TAX X_{H6} KSTSTAYMX X_{H7} LSSLRSEDX X_{H8} AVYFCARGVYFDYW GQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 11), en la que X_{H1} en la posición Kabat 11 es un aminoácido con una cadena lateral alifática tal como V, X_{H2} en la posición Kabat 20 es un aminoácido con una cadena lateral alifática tal como V, X_{H3} en la posición Kabat 38 es un aminoácido con una cadena lateral polar tal como R, X_{H4} en la posición Kabat 67 es un aminoácido con una cadena lateral alifática tal como A, X_{H5} en la posición Kabat 69 es un aminoácido con una cadena lateral alifática tal como I, X_{H6} en la posición Kabat 72 es un aminoácido ácido tal como D, X_{H7} en la posición Kabat 81 es un aminoácido ácido tal como E, y X_{H8} en la posición Kabat 87 es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática tal como T; y (ii) un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos
DIVMTQSPSX X_{K1} LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPX X_{K2} LIYSASYRYS
VPDRFX X_{K3} GSGSGTDFTLTISLQX X_{K4} EDFAX X_{K5} YX X_{K6} CQQYNSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 12), en la que X_{K1}

en la posición Kabat 10 es un aminoácido aromático tal como F, X_{K2} en la posición Kabat 46 es un aminoácido con una cadena lateral alifática tal como A, X_{K3} en la posición Kabat 63 es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática tal como T, X_{K4} en la posición Kabat 80 es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática tal como S, X_{K5} en la posición Kabat 85 es un aminoácido ácido tal como D, y X_{K6} en la posición Kabat 87 es un aminoácido aromático tal como F.

En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende (i) un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 16-18, respectivamente; y (ii) un dominio VL que comprende la SEQ ID NO: 7, 8, 9 o 10.

En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende (i) un dominio VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 16-18, respectivamente; y (ii) un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos DIVMTQSPSX_{K1}LSASVGDRTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_{K2}LIYSASYRYSQVPDRFX_{K3}GSGSGTDFLTISLQX_{K4}DFAX_{K5}YX_{K6}CQQYNSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 12), seleccionándose X_{K1} en la posición Kabat 10, X_{K2} en la posición Kabat 46, X_{K3} en la posición Kabat 63, X_{K4} en la posición Kabat 80, X_{K5} en la posición Kabat 85, y X_{K6} en la posición Kabat 87 de la combinación de aminoácidos definida en la Tabla 6A.

En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende (i) un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, 3, 4 o 5; y (ii) un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente.

En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende (i) un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos:

QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPGKGLEWIARIYPGSGNTYYNEKFGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LSSLRSEDX_{H8}AVYFCARGVYFDYW GQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 11), seleccionándose X_{H1} en la posición Kabat 11, X_{H2} en la posición Kabat 20, X_{H3} en la posición Kabat 38, X_{H4} en la posición Kabat 67, X_{H5} en la posición Kabat 69, X_{H6} en la posición Kabat 72, X_{H7} en la posición Kabat 81, y X_{H8} en la posición Kabat 87 de la combinación de aminoácidos definida en la Tabla 6B; y (ii) un dominio VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente.

Tabla 6A: Sustituciones de aminoácidos en el dominio VK

	X_{K1}	X_{K2}	X_{K3}	X_{K4}	X_{K5}	X_{K6}
Posición Kabat	10	46	63	80	85	87
Posición numérica de SEQ ID NO: 12	10	46	63	80	85	87
Cadena lateral de aminoácido	Aromática o hidroxilo alifática	Alifática o hidroxilo alifática	Hidroxilo alifática	Prolínica o hidroxilo alifática	Cargada o ácida	Aromática
L1	F	A	T	S	D	F
L2	S	A	T	P	D	F
L3	S	A	T	P	D	F
L4	S	S	S	P	T	Y
LL1	S	A	T	S	D	F
LL2	F	S	T	S	D	F
LL3	S	S	T	S	D	F
LL4	F	A	S	S	D	F
LL5	S	A	S	S	D	F

	X _{K1}	X _{K2}	X _{K3}	X _{K4}	X _{K5}	X _{K6}
Posición Kabat	10	46	63	80	85	87
Posición numérica de SEQ ID NO: 12	10	46	63	80	85	87
Cadena lateral de aminoácido	Aromática o hidroxilo alifática	Alifática o hidroxilo alifática	Hidroxilo alifática	Prolínica o hidroxilo alifática	Cargada o ácida	Aromática
LL6	F	S	S	S	D	F
LL7	S	S	S	S	D	F
LL8	F	A	T	P	D	F
LL9	S	A	T	P	D	F
LL10	F	S	T	P	D	F
LL11	S	S	T	P	D	F
LL12	F	A	S	P	D	F
LL13	S	A	S	P	D	F
LL14	F	S	S	P	D	F
LL15	S	S	S	P	D	F
LL16	F	A	T	S	T	F
LL17	S	A	T	S	T	F
LL18	F	S	T	S	T	F
LL19	S	S	T	S	T	F
LL20	F	A	S	S	T	F
LL21	S	A	S	S	T	F
LL22	F	S	S	S	T	F
LL23	S	S	S	S	T	F
LL24	F	A	T	P	T	F
LL25	S	A	T	P	T	F
LL26	F	S	T	P	T	F
LL27	S	S	T	P	T	F
LL28	F	A	S	P	T	F
LL29	S	A	S	P	T	F
LL30	F	S	S	P	T	F
LL31	S	S	S	P	T	F
LL32	S	A	T	S	D	Y
LL33	F	S	T	S	D	Y
LL34	S	S	T	S	D	Y
LL35	F	A	S	S	D	Y
LL36	S	A	S	S	D	Y
LL37	F	S	S	S	D	Y
LL38	S	S	S	S	D	Y
LL39	F	A	T	P	D	Y
LL40	S	A	T	P	D	Y

	X _{K1}	X _{K2}	X _{K3}	X _{K4}	X _{K5}	X _{K6}
Posición Kabat	10	46	63	80	85	87
Posición numérica de SEQ ID NO: 12	10	46	63	80	85	87
Cadena lateral de aminoácido	Aromática o hidroxilo alifática	Alifática o hidroxilo alifática	Hidroxilo alifática	Prolínica o hidroxilo alifática	Cargada o ácida	Aromática
LL41	F	S	T	P	D	Y
LL42	S	S	T	P	D	Y
LL43	F	A	S	P	D	Y
LL44	S	A	S	P	D	Y
LL45	F	S	S	P	D	Y
LL46	S	S	S	P	D	Y
LL47	F	A	T	S	T	Y
LL48	S	A	T	S	T	Y
LL49	F	S	T	S	T	Y
LL50	S	S	T	S	T	Y
LL51	F	A	S	S	T	Y
LL52	S	A	S	S	T	Y
LL53	F	S	S	S	T	Y
LL54	S	S	S	S	T	Y
LL55	F	A	T	P	T	Y
LL56	S	A	T	P	T	Y
LL57	F	S	T	P	T	Y
LL58	S	S	T	P	T	Y
LL59	F	A	S	P	T	Y
LL60	S	A	S	P	T	Y
LL61	F	S	S	P	T	Y
LL62	S	S	S	P	T	Y

Tabla 6B: Sustituciones de aminoácidos en el dominio VH

	X _{H1}	X _{H2}	X _{H3}	X _{H4}	X _{H5}	X _{H6}	X _{H7}	X _{H8}
Posición Kabat	11	20	38	67	69	72	81	87
Posición numérica de SEQ ID NO: 11	11	20	38	68	70	73	82	91
Cadena lateral de aminoácido	Alifática	Alifática	Polar o básica	Alifática	Alifática	Ácida	Ácida o derivada amídica	Hidroxilo alifática
H1	L	L	K	A	L	E	Q	S
H2	V	L	K	A	L	E	Q	T

	X _{H1}	X _{H2}	X _{H3}	X _{H4}	X _{H5}	X _{H6}	X _{H7}	X _{H8}
Posición Kabat	11	20	38	67	69	72	81	87
Posición numérica de SEQ ID NO: 11	11	20	38	68	70	73	82	91
Cadena lateral de aminoácido	Alifática	Alifática	Polar o básica	Alifática	Alifática	Ácida	Ácida o derivada amídica	Hidroxilo alifática
H3	V	L	R	A	L	D	Q	T
H4	V	V	R	A	I	D	E	T
H5	V	V	R	V	I	D	E	T
HH1	L	L	K	A	L	E	Q	S
HH2	V	L	K	A	L	E	Q	S
HH3	L	V	K	A	L	E	Q	S
HH4	V	V	K	A	L	E	Q	S
HH5	L	L	R	A	L	E	Q	S
HH6	V	L	R	A	L	E	Q	S
HH7	L	V	R	A	L	E	Q	S
HH8	V	V	R	A	L	E	Q	S
HH9	L	L	K	V	L	E	Q	S
HH10	V	L	K	V	L	E	Q	S
HH11	L	V	K	V	L	E	Q	S
HH12	V	V	K	V	L	E	Q	S
HH13	L	L	R	V	L	E	Q	S
HH14	V	L	R	V	L	E	Q	S
HH15	L	V	R	V	L	E	Q	S
HH16	V	V	R	V	L	E	Q	S
HH17	L	L	K	A	I	E	Q	S
HH18	V	L	K	A	I	E	Q	S
HH19	L	V	K	A	I	E	Q	S
HH20	V	V	K	A	I	E	Q	S
HH21	L	L	R	A	I	E	Q	S
HH22	V	L	R	A	I	E	Q	S
HH23	L	V	R	A	I	E	Q	S
HH24	V	V	R	A	I	E	Q	S
HH25	L	L	K	V	I	E	Q	S
HH26	V	L	K	V	I	E	Q	S
HH27	L	V	K	V	I	E	Q	S
HH28	V	V	K	V	I	E	Q	S

	X _{H1}	X _{H2}	X _{H3}	X _{H4}	X _{H5}	X _{H6}	X _{H7}	X _{H8}
Posición Kabat	11	20	38	67	69	72	81	87
Posición numérica de SEQ ID NO: 11	11	20	38	68	70	73	82	91
Cadena lateral de aminoácido	Alifática	Alifática	Polar o básica	Alifática	Alifática	Ácida	Ácida o derivada amídica	Hidroxilo alifática
HH29	L	L	R	V	I	E	Q	S
HH30	V	L	R	V	I	E	Q	S
HH31	L	V	R	V	I	E	Q	S
HH32	V	V	R	V	I	E	Q	S
HH33	L	L	K	A	L	D	Q	S
HH34	V	L	K	A	L	D	Q	S
HH35	L	V	K	A	L	D	Q	S
HH36	V	V	K	A	L	D	Q	S
HH37	L	L	R	A	L	D	Q	S
HH38	V	L	R	A	L	D	Q	S
HH39	L	V	R	A	L	D	Q	S
HH40	V	V	R	A	L	D	Q	S
HH41	L	L	K	V	L	D	Q	S
HH42	V	L	K	V	L	D	Q	S
HH43	L	V	K	V	L	D	Q	S
HH44	V	V	K	V	L	D	Q	S
HH45	L	L	R	V	L	D	Q	S
HH46	V	L	R	V	L	D	Q	S
HH47	L	V	R	V	L	D	Q	S
HH48	V	V	R	V	L	D	Q	S
HH49	L	L	K	A	I	D	Q	S
HH50	V	L	K	A	I	D	Q	S
HH51	L	V	K	A	I	D	Q	S
HH52	V	V	K	A	I	D	Q	S
HH53	L	L	R	A	I	D	Q	S
HH54	V	L	R	A	I	D	Q	S
HH55	L	V	R	A	I	D	Q	S
HH56	V	V	R	A	I	D	Q	S
HH57	L	L	K	V	I	D	Q	S
HH58	V	L	K	V	I	D	Q	S
HH59	L	V	K	V	I	D	Q	S
HH60	V	V	K	V	I	D	Q	S

	X _{H1}	X _{H2}	X _{H3}	X _{H4}	X _{H5}	X _{H6}	X _{H7}	X _{H8}
Posición Kabat	11	20	38	67	69	72	81	87
Posición numérica de SEQ ID NO: 11	11	20	38	68	70	73	82	91
Cadena lateral de aminoácido	Alifática	Alifática	Polar o básica	Alifática	Alifática	Ácida	Ácida o derivada amídica	Hidroxilo alifática
HH61	L	L	R	V	I	D	Q	S
HH62	V	L	R	V	I	D	Q	S
HH63	L	V	R	V	I	D	Q	S
HH64	V	V	R	V	I	D	Q	S
HH65	L	L	K	A	L	E	E	S
HH66	V	L	K	A	L	E	E	S
HH67	L	V	K	A	L	E	E	S
HH68	V	V	K	A	L	E	E	S
HH69	L	L	R	A	L	E	E	S
HH70	V	L	R	A	L	E	E	S
HH71	L	V	R	A	L	E	E	S
HH72	V	V	R	A	L	E	E	S
HH73	L	L	K	V	L	E	E	S
HH74	V	L	K	V	L	E	E	S
HH75	L	V	K	V	L	E	E	S
HH76	V	V	K	V	L	E	E	S
HH77	L	L	R	V	L	E	E	S
HH78	V	L	R	V	L	E	E	S
HH79	L	V	R	V	L	E	E	S
HH80	V	V	R	V	L	E	E	S
HH81	L	L	K	A	I	E	E	S
HH82	V	L	K	A	I	E	E	S
HH83	L	V	K	A	I	E	E	S
HH84	V	V	K	A	I	E	E	S
HH85	L	L	R	A	I	E	E	S
HH86	V	L	R	A	I	E	E	S
HH87	L	V	R	A	I	E	E	S
HH88	V	V	R	A	I	E	E	S
HH89	L	L	K	V	I	E	E	S
HH90	V	L	K	V	I	E	E	S
HH91	L	V	K	V	I	E	E	S
HH92	V	V	K	V	I	E	E	S

	X _{H1}	X _{H2}	X _{H3}	X _{H4}	X _{H5}	X _{H6}	X _{H7}	X _{H8}
Posición Kabat	11	20	38	67	69	72	81	87
Posición numérica de SEQ ID NO: 11	11	20	38	68	70	73	82	91
Cadena lateral de aminoácido	Alifática	Alifática	Polar o básica	Alifática	Alifática	Ácida	Ácida o derivada amídica	Hidroxilo alifática
HH93	L	L	R	V	I	E	E	S
HH94	V	L	R	V	I	E	E	S
HH95	L	V	R	V	I	E	E	S
HH96	V	V	R	V	I	E	E	S
HH97	L	L	K	A	L	D	E	S
HH98	V	L	K	A	L	D	E	S
HH99	L	V	K	A	L	D	E	S
HH100	V	V	K	A	L	D	E	S
HH101	L	L	R	A	L	D	E	S
HH102	V	L	R	A	L	D	E	S
HH103	L	V	R	A	L	D	E	S
HH104	V	V	R	A	L	D	E	S
HH105	L	L	K	V	L	D	E	S
HH106	V	L	K	V	L	D	E	S
HH107	L	V	K	V	L	D	E	S
HH108	V	V	K	V	L	D	E	S
HH109	L	L	R	V	L	D	E	S
HH110	V	L	R	V	L	D	E	S
HH111	L	V	R	V	L	D	E	S
HH112	V	V	R	V	L	D	E	S
HH113	L	L	K	A	I	D	E	S
HH114	V	L	K	A	I	D	E	S
HH115	L	V	K	A	I	D	E	S
HH116	V	V	K	A	I	D	E	S
HH117	L	L	R	A	I	D	E	S
HH118	V	L	R	A	I	D	E	S
HH119	L	V	R	A	I	D	E	S
HH120	V	V	R	A	I	D	E	S
HH121	L	L	K	V	I	D	E	S
HH122	V	L	K	V	I	D	E	S
HH123	L	V	K	V	I	D	E	S
HH124	V	V	K	V	I	D	E	S

	X _{H1}	X _{H2}	X _{H3}	X _{H4}	X _{H5}	X _{H6}	X _{H7}	X _{H8}
Posición Kabat	11	20	38	67	69	72	81	87
Posición numérica de SEQ ID NO: 11	11	20	38	68	70	73	82	91
Cadena lateral de aminoácido	Alifática	Alifática	Polar o básica	Alifática	Alifática	Ácida	Ácida o derivada amídica	Hidroxilo alifática
HH125	L	L	R	V	I	D	E	S
HH126	V	L	R	V	I	D	E	S
HH127	L	V	R	V	I	D	E	S
HH128	V	V	R	V	I	D	E	S
HH129	L	L	K	A	L	E	Q	T
HH130	V	L	K	A	L	E	Q	T
HH131	L	V	K	A	L	E	Q	T
HH132	V	V	K	A	L	E	Q	T
HH133	L	L	R	A	L	E	Q	T
HH134	V	L	R	A	L	E	Q	T
HH135	L	V	R	A	L	E	Q	T
HH136	V	V	R	A	L	E	Q	T
HH137	L	L	K	V	L	E	Q	T
HH138	V	L	K	V	L	E	Q	T
HH139	L	V	K	V	L	E	Q	T
HH140	V	V	K	V	L	E	Q	T
HH141	L	L	R	V	L	E	Q	T
HH142	V	L	R	V	L	E	Q	T
HH143	L	V	R	V	L	E	Q	T
HH144	V	V	R	V	L	E	Q	T
HH145	L	L	K	A	I	E	Q	T
HH146	V	L	K	A	I	E	Q	T
HH147	L	V	K	A	I	E	Q	T
HH148	V	V	K	A	I	E	Q	T
HH149	L	L	R	A	I	E	Q	T
HH150	V	L	R	A	I	E	Q	T
HH151	L	V	R	A	I	E	Q	T
HH152	V	V	R	A	I	E	Q	T
HH153	L	L	K	V	I	E	Q	T
HH154	V	L	K	V	I	E	Q	T
HH155	L	V	K	V	I	E	Q	T
HH156	V	V	K	V	I	E	Q	T

	X _{H1}	X _{H2}	X _{H3}	X _{H4}	X _{H5}	X _{H6}	X _{H7}	X _{H8}
Posición Kabat	11	20	38	67	69	72	81	87
Posición numérica de SEQ ID NO: 11	11	20	38	68	70	73	82	91
Cadena lateral de aminoácido	Alifática	Alifática	Polar o básica	Alifática	Alifática	Ácida	Ácida o derivada amídica	Hidroxilo alifática
HH157	L	L	R	V	I	E	Q	T
HH158	V	L	R	V	I	E	Q	T
HH159	L	V	R	V	I	E	Q	T
HH160	V	V	R	V	I	E	Q	T
HH161	L	L	K	A	L	D	Q	T
HH162	V	L	K	A	L	D	Q	T
HH163	L	V	K	A	L	D	Q	T
HH164	V	V	K	A	L	D	Q	T
HH165	L	L	R	A	L	D	Q	T
HH166	V	L	R	A	L	D	Q	T
HH167	L	V	R	A	L	D	Q	T
HH168	V	V	R	A	L	D	Q	T
HH169	L	L	K	V	L	D	Q	T
HH170	V	L	K	V	L	D	Q	T
HH171	L	V	K	V	L	D	Q	T
HH172	V	V	K	V	L	D	Q	T
HH173	L	L	R	V	L	D	Q	T
HH174	V	L	R	V	L	D	Q	T
HH175	L	V	R	V	L	D	Q	T
HH176	V	V	R	V	L	D	Q	T
HH177	L	L	K	A	I	D	Q	T
HH178	V	L	K	A	I	D	Q	T
HH179	L	V	K	A	I	D	Q	T
HH180	V	V	K	A	I	D	Q	T
HH181	L	L	R	A	I	D	Q	T
HH182	V	L	R	A	I	D	Q	T
HH183	L	V	R	A	I	D	Q	T
HH184	V	V	R	A	I	D	Q	T
HH185	L	L	K	V	I	D	Q	T
HH186	V	L	K	V	I	D	Q	T
HH187	L	V	K	V	I	D	Q	T
HH188	V	V	K	V	I	D	Q	T

	X _{H1}	X _{H2}	X _{H3}	X _{H4}	X _{H5}	X _{H6}	X _{H7}	X _{H8}
Posición Kabat	11	20	38	67	69	72	81	87
Posición numérica de SEQ ID NO: 11	11	20	38	68	70	73	82	91
Cadena lateral de aminoácido	Alifática	Alifática	Polar o básica	Alifática	Alifática	Ácida	Ácida o derivada amídica	Hidroxilo alifática
HH189	L	L	R	V	I	D	Q	T
HH190	V	L	R	V	I	D	Q	T
HH191	L	V	R	V	I	D	Q	T
HH192	V	V	R	V	I	D	Q	T
HH193	L	L	K	A	L	E	E	T
HH194	V	L	K	A	L	E	E	T
HH195	L	V	K	A	L	E	E	T
HH196	V	V	K	A	L	E	E	T
HH197	L	L	R	A	L	E	E	T
HH198	V	L	R	A	L	E	E	T
HH199	L	V	R	A	L	E	E	T
HH200	V	V	R	A	L	E	E	T
HH201	L	L	K	V	L	E	E	T
HH202	V	L	K	V	L	E	E	T
HH203	L	V	K	V	L	E	E	T
HH204	V	V	K	V	L	E	E	T
HH205	L	L	R	V	L	E	E	T
HH206	V	L	R	V	L	E	E	T
HH207	L	V	R	V	L	E	E	T
HH208	V	V	R	V	L	E	E	T
HH209	L	L	K	A	I	E	E	T
HH210	V	L	K	A	I	E	E	T
HH211	L	V	K	A	I	E	E	T
HH212	V	V	K	A	I	E	E	T
HH213	L	L	R	A	I	E	E	T
HH214	V	L	R	A	I	E	E	T
HH215	L	V	R	A	I	E	E	T
HH216	V	V	R	A	I	E	E	T
HH217	L	L	K	V	I	E	E	T
HH218	V	L	K	V	I	E	E	T
HH219	L	V	K	V	I	E	E	T
HH220	V	V	K	V	I	E	E	T

	X _{H1}	X _{H2}	X _{H3}	X _{H4}	X _{H5}	X _{H6}	X _{H7}	X _{H8}
Posición Kabat	11	20	38	67	69	72	81	87
Posición numérica de SEQ ID NO: 11	11	20	38	68	70	73	82	91
Cadena lateral de aminoácido	Alifática	Alifática	Polar o básica	Alifática	Alifática	Ácida	Ácida o derivada amídica	Hidroxilo alifática
HH221	L	L	R	V	I	E	E	T
HH222	V	L	R	V	I	E	E	T
HH223	L	V	R	V	I	E	E	T
HH224	V	V	R	V	I	E	E	T
HH225	L	L	K	A	L	D	E	T
HH226	V	L	K	A	L	D	E	T
HH227	L	V	K	A	L	D	E	T
HH228	V	V	K	A	L	D	E	T
HH229	L	L	R	A	L	D	E	T
HH230	V	L	R	A	L	D	E	T
HH231	L	V	R	A	L	D	E	T
HH232	V	V	R	A	L	D	E	T
HH233	L	L	K	V	L	D	E	T
HH234	V	L	K	V	L	D	E	T
HH235	L	V	K	V	L	D	E	T
HH236	V	V	K	V	L	D	E	T
HH237	L	L	R	V	L	D	E	T
HH238	V	L	R	V	L	D	E	T
HH239	L	V	R	V	L	D	E	T
HH240	V	V	R	V	L	D	E	T
HH241	L	L	K	A	I	D	E	T
HH242	V	L	K	A	I	D	E	T
HH243	L	V	K	A	I	D	E	T
HH244	V	V	K	A	I	D	E	T
HH245	L	L	R	A	I	D	E	T
HH246	V	L	R	A	I	D	E	T
HH247	L	V	R	A	I	D	E	T
HH248	V	V	R	A	I	D	E	T
HH249	L	L	K	V	I	D	E	T
HH250	V	L	K	V	I	D	E	T
HH251	L	V	K	V	I	D	E	T
HH252	V	V	K	V	I	D	E	T

	X _{H1}	X _{H2}	X _{H3}	X _{H4}	X _{H5}	X _{H6}	X _{H7}	X _{H8}
Posición Kabat	11	20	38	67	69	72	81	87
Posición numérica de SEQ ID NO: 11	11	20	38	68	70	73	82	91
Cadena lateral de aminoácido	Alifática	Alifática	Polar o básica	Alifática	Alifática	Ácida	Ácida o derivada amídica	Hidroxilo alifática
HH253	L	L	R	V	I	D	E	T
HH254	V	L	R	V	I	D	E	T
HH255	L	V	R	V	I	D	E	T
HH256	V	V	R	V	I	D	E	T

En una realización específica, la posición (es decir, el límite) de una región de cadena VL descrita en la presente memoria relativa con respecto a la región constante puede cambiar en una, dos, tres o cuatro posiciones de aminoácidos siempre y cuando se mantenga la unión inmuno-específica a KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano) (por ejemplo, que se mantenga sustancialmente; por ejemplo, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%). En una realización específica, la posición (es decir, el límite) de una región de cadena VH descrita en la presente memoria relativa con respecto a la región constante puede cambiar en una, dos, tres o cuatro posiciones de aminoácidos siempre y cuando se mantenga la unión inmuno-específica a KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano) (por ejemplo, que se mantenga sustancialmente; por ejemplo, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%).

En aspectos específicos, en la presente memoria se proporciona un resto que comprende las CDR VH y/o las CDR VL descritas en la presente memoria —por ejemplo según se define en las Tablas 1-3 y 10-15—, estando dispuestas las CDR VH y las CDR VL en una orientación espacial que confiere una unión específica a una región D4 del KIT humano.

En aspectos específicos, en la presente memoria se proporciona un resto que comprende las CDR VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 16-18 y las CDR VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19-21, las CDR VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 56, 62 y 63 y las CDR VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 59-61, las CDR VH que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 70-72 y las CDR VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 66-68, estando dispuestas las CDR VH y las CDR VL en una orientación espacial que confiere una unión específica a una región D4 del KIT humano. En ciertas realizaciones, el resto es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En una realización particular, el resto es una proteína, tal como una proteína de fusión que comprenda una región Fc.

En aspectos específicos, en la presente memoria se proporciona un resto que comprende las CDR VH seleccionadas de las Tablas 13-15 y/o las CDR VL seleccionadas de las Tablas 10-12, estando dispuestas las CDR VH y las CDR VL en una orientación espacial que confiere una unión específica a una región D4 del KIT humano. En ciertas realizaciones, el resto es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En una realización particular, el resto es una proteína, tal como una proteína de fusión que comprenda una región Fc.

En aspectos específicos, en la presente memoria se proporciona un resto, tal como un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende las CDR VH 1-3 y las CDR VL 1-3 seleccionadas de las presentadas en las Tablas 10-15, estando dispuestas las CDR VH y las CDR VL en una orientación espacial que confiere una unión específica a una región D4 del KIT humano. En aspectos particulares, un resto descrito en la presente memoria comprende conectores, tales como conectores de péptidos, que unen las CDR VH 1-3 y/o las CDR VL 1-3 en la orientación espacial que confiere una unión específica a una región D4 del KIT humano.

En aspectos particulares, un resto descrito en la presente memoria comprende conectores, tales como conectores de péptidos, que unen las CDR VH y/o las CDR VL en una orientación espacial que confiere una unión específica a una región D4 del KIT humano.

En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las CDR VL 1-3 y las CDR VH 1-3 seleccionadas de las presentadas en las Tablas 10-15,

uniéndose inmuno-específicamente el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, a una región D4 de KIT, tal como KIT humano.

En una realización específica, el aminoácido "X" de una CDR en una cualquiera de las Tablas 10-15 es cualquier aminoácido que se dé de forma natural que mantenga una afinidad de unión específica a una región D4 del KIT humano. En una realización específica, el aminoácido "X" de una CDR en una cualquiera de las Tablas 10-15 es un aminoácido no natural que mantiene una afinidad de unión específica a una región D4 del KIT humano. En una realización específica, el aminoácido "X" de una CDR en una cualquiera de las Tablas 10-15 es una sustitución conservadora del correspondiente aminoácido de las que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 16-21, manteniéndose la afinidad de unión específica a una región D4 del KIT humano.

En una realización específica, el aminoácido "X" de una CDR en una cualquiera de las Tablas 10-15 es, independientemente, un aminoácido A, G, T, K o L. En una realización particular, el aminoácido "X" de una CDR en una cualquiera de las Tablas 10-15 es un aminoácido A, G, T, Y, C o S. En ciertos aspectos de estas realizaciones, se mantiene la afinidad de unión específica a una región D4 del KIT humano.

En cierta realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VH y/o las CDR VL seleccionadas de las presentadas en las Tablas 10-15.

En una realización particular, una CDR, tal como una cualquiera de las CDR VL 1-3 y las CDR VH 1-3 representadas en las Tablas 10-15, comprende uno o más (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco) aminoácidos "X", pudiendo ser cada aminoácido "X" cualquier aminoácido que pueda mantener una unión específica del anticuerpo o el fragmento del mismo a una región D4 del KIT humano.

Tabla 10: CDR1 VL

CDR1 VL	SEQ ID NO:
K A S Q N V R T N V A	19
<u>X</u> A S Q N V R T N V A	74
K <u>X</u> S Q N V R T N V A	75
K A <u>X</u> Q N V R T N V A	76
K A S <u>X</u> N V R T N V A	77
K A S Q <u>X</u> V R T N V A	78
K A S Q (A/G/T/Y/C/S) V R T N V A	79
K A S Q N <u>X</u> R T N V A	80
K A S Q N V <u>X</u> T N V A	81
K A S Q N V R <u>X</u> N V A	82
K A S Q N V R T <u>X</u> V A	83
K A S Q N V R T (A/G/T/Y/C/S) V A	84
K A S Q N V R T N <u>X</u> A	85
K A S Q N V R T N V <u>X</u>	86
C K A S Q N V R T N V	87
I C K A S Q N V R T N	88
A S Q N V R T N V A W	89
S Q N V R T N V A W Y	90
Q N V R T N V A W Y Q	91

Tabla 11: CDR2 VL

CDR2 VL	SEQ ID NO:
S A S Y R Y S	20
<u>X</u> A S Y R Y S	92
S <u>X</u> S Y R Y S	93

CDR2 VL	SEQ ID NO:
SA <u>X</u> YRYS	94
SAS <u>X</u> RYS	95
SASY <u>X</u> YS	96
SASYR <u>X</u> S	97
SASYRY <u>X</u>	98
YSASYRY	99
IYSASYR	100
LIYSASY	101
ASYRYSG	102
SYRYSGV	103
YRYSGVP	104

Tabla 12: CDR3 VL

CDR3 VL	SEQ ID NO:
QQYNSYPRT	21
Q <u>X</u> YNSYPRT	105
QQ <u>X</u> NSYPRT	106
QQY <u>X</u> SYPRT	107
QQYN <u>X</u> YPRT	108
QQYNS <u>X</u> PRT	109
QQYNSY <u>X</u> RT	110
QQYNSYP <u>X</u> T	111
QQYNSYPR <u>X</u>	112
QQYNSYPR	113
CQQYNSYP	114
FCQQYNSY	115
YFCQQYNS	116
QYNSYPRF	117
YNSYPRFG	118
SYPRFGG	119

Tabla 13: CDR1 VH

CDR1 VH	SEQ ID NO:
DYYIN	16
<u>X</u> YYIN	120
D <u>X</u> YYIN	121
DY <u>X</u> IN	122
DYY <u>X</u> N	123
DYYI <u>X</u>	124
TDYYI	125

CDR1 VH	SEQ ID NO:
FTDYY	126
TFTDY	127
YYINW	128
YYINWV	129
INWVR	130

Tabla 14: CDR2 VH

CDR2 VH	SEQ ID NO:
RIYPGSGNTYYNEKFKG	17
<u>X</u> IYPGSGNTYYNEKFKG	131
R <u>X</u> YPGSGNTYYNEKFKG	132
RI <u>X</u> PGSGNTYYNEKFKG	133
RIY <u>X</u> GSGNTYYNEKFKG	134
RIYP <u>X</u> SGNTYYNEKFKG	135
RIYPG <u>X</u> GNTYYNEKFKG	136
RIYPGS <u>X</u> NTYYNEKFKG	137
RIYPGSG <u>X</u> TYTYYNEKFKG	138
RIYPGSGN <u>X</u> YYNEKFKG	139
RIYPGSGNT <u>X</u> YNEKFKG	140
RIYPGSGNTY <u>X</u> NEKFKG	141
RIYPGSGNTYY <u>X</u> EKFKG	142
RIYPGSGNTYYN <u>X</u> KFKG	143
RIYPGSGNTYYNE <u>X</u> FKG	144
RIYPGSGNTYYNEK <u>X</u> KG	145
RIYPGSGNTYYNEKF <u>X</u> G	146
RIYPGSGNTYYNEKFK <u>X</u>	147
ARIYPGSGNTYYNEKF	148
IARIYPGSGNTYYNEK	149
WIARIYPGSGNTYYNE	150
IYPGSGNTYYNEKFKGR	151
YPGSGNTYYNEKFKGRA	152
PGSGNTYYNEKFKGRAT	153

Tabla 15: CDR3 VH

CDR3 VH	SEQ ID NO:
GVYYFDY	18
<u>X</u> VYYFDY	154
G <u>X</u> YYFDY	155
GV <u>X</u> YFDY	156
GVY <u>X</u> FDY	157

CDR3 VH	SEQ ID NO:
G V Y Y <u>X</u> D Y	158
G V Y Y F <u>X</u> Y	159
G V Y Y F D <u>X</u>	160
R G V Y Y F D	161
A R G V Y Y F	162
C A R G V Y Y	163
G V Y Y F D Y W	164
V Y Y F D Y W G	165
Y Y F D Y W G Q	166

En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las FR VL 1-4 seleccionadas de las presentadas en las Tablas 20-23 y/o las FR VH 1-4 seleccionadas de las presentadas en las Tablas 16-19, uniéndose inmunoespecíficamente el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, a una región D4 de KIT, tal como KIT humano.

- 5 En una realización específica, el aminoácido "X" de una FR en una cualquiera de las Tablas 16-23 es cualquier aminoácido que se dé de forma natural que mantenga una afinidad de unión específica a una región D4 del KIT humano. En una realización específica, el aminoácido "X" de una CDR en una cualquiera de las Tablas 16-23 es un aminoácido no natural que mantiene una afinidad de unión específica a una región D4 del KIT humano. En una realización específica, el aminoácido "X" de una CDR en una cualquiera de las Tablas 16-23 es una sustitución conservadora del correspondiente aminoácido de las que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 16-21, manteniéndose la afinidad de unión específica a una región D4 del KIT humano.

- 10 En una realización específica, el aminoácido "X" de una CDR en una cualquiera de las Tablas 16-23 es un aminoácido A, G, T, K o L. En una realización particular, el aminoácido "X" de una CDR en una cualquiera de las Tablas 16-23 es un aminoácido A, G, T, Y, C o S. En ciertos aspectos de estas realizaciones, se mantiene la afinidad de unión específica a una región D4 del KIT humano.

15 En cierta realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las CDR VH y/o las CDR VL seleccionadas de las presentadas en las Tablas 16-23.

- 20 En una realización particular, una FR, tal como una cualquiera de las FR VL 1-4 y las FR VH 1-4 representadas en las Tablas 16-23, comprende uno o más (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco) aminoácidos "X", pudiendo ser cada aminoácido "X" cualquier aminoácido que pueda mantener una unión específica del anticuerpo o el fragmento del mismo a una región D4 del KIT humano.

Tabla 16: FR1 VH

	FR1 VH	SEQ ID NO:
H1	QVQLVQSGAELKKPGASVKLSCKASGYTFT	33
H2/H3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFT	37
H4/H5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFT	41
	<u>X</u> VQLVQSGAE(L/V)KKPGASVK(L/V)SCKASGYTFT	167
	Q <u>X</u> QLVQSGAE(L/V)KKPGASVK(L/V)SCKASGYTFT	168
	QV <u>X</u> LVQSGAE(L/V)KKPGASVK(L/V)SCKASGYTFT	169
	QVQ <u>X</u> VQSGAE(L/V)KKPGASVK(L/V)SCKASGYTFT	170
	QVQL <u>X</u> QSGAE(LN)KKPGASVK(L)SCKASGYTFT	171
	QVQLV <u>X</u> SGAE(L/V)KKPGASVK(L/V)SCKASGYTFT	172
	QVQLVQ <u>X</u> GAE(L/V)KKPGASVK(L/V)SCKASGYTFT	173
	QVQLVQS <u>X</u> AE(L/V)KKPGASVK(L/V)SCKASGYTFT	174
	QVQLVQSG <u>X</u> E(L/V)KKPGASVK(L/V)SCKASGYTFT	175

	FR1 VH	SEQ ID NO:
	QVQLVQSGA <u>X</u> (L/V)KKPGASVK(L/V)SKASGYTFT	176
	QVQLVQSGAE <u>X</u> KKPGASVK(L/V)SCKASGYTFT	177
	QVQLVQSGAE(L/V) <u>X</u> KKPGASVK(L/V)SCKASGYTFT	178
	QVQLVQSGAE(L/V)K <u>X</u> PGASVK(L/V)SCKASGYTFT	179
	QVQLVQSGAE(L/V)KK <u>X</u> GASVK(L/V)SCKASGYTFT	180
	QVQLVQSGAE(L/V)KKP <u>X</u> ASVK(L/V)SCKASGYTFT	181
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPG <u>X</u> SVK(L/V)SCKASGYTFT	182
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPGA <u>X</u> VK(L/V)SCKASGYTFT	183
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPGAS <u>X</u> K(L/V)SCKASGYTFT	184
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPGASV <u>X</u> (L/V)SCKASGYTFT	185
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPGASVK <u>X</u> SCKASGYTFT	186
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPGASVK(L/V) <u>X</u> CKASGYTFT	187
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPGASVK(L/V)S <u>X</u> KASGYTFT	188
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPGASVK(L/V)SC <u>X</u> ASGYTFT	189
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPGASVK(L/V)SCK <u>X</u> SGYTFT	190
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPGASVK(L/V)SCKA <u>X</u> GYTFT	191
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPGASVK(L/V)SCKAS <u>X</u> YTFT	192
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPGASVK(L/V)SCKASG <u>X</u> TFT	193
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPGASVK(L/V)SCKASGY <u>X</u> FT	194
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPGASVK(L/V)SCKASGYT <u>X</u> T	195
	QVQLVQSGAE(L/V)KKPGASVK(L/V)SCKASGYTF <u>X</u>	196

Tabla 17: FR2 VH

	FR2 VH	SEQ ID NO:
H1/H2	WVKQAPGKGLEWIA	34
H3/H4/H5	WVRQAPGKGLEWIA	39
	<u>X</u> V(R/K)QAPGKGLEWIA	197
	W <u>X</u> (R/K)QAPGKGLEWIA	198
	WV <u>X</u> QAPGKGLEWIA	199
	WV(R/K) <u>X</u> APGKGLEWIA	200
	WV(R/K)Q <u>X</u> PGKGLEWIA	201
	WV(R/K)QA <u>X</u> GKGLEWIA	202
	WV(R/K)QAP <u>X</u> KGLEWIA	203
	WV(R/K)QAPG <u>X</u> GLEWIA	204
	WV(R/K)QAPGK <u>X</u> LEWIA	205
	WV(R/K)QAPGKG <u>X</u> EWIA	206
	WV(R/K)QAPGKGL <u>X</u> WIA	207
	WV(R/K)QAPGKGLE <u>X</u> IA	208
	WV(R/K)QAPGKGLEW <u>X</u> A	209
	WV(R/K)QAPGKGLEW <u>X</u>	210

Tabla 18: FR3 VH

	FR3 VH	SEQ ID NO:
H1	RATLTAEKSTSTAYMQLSSLRSEDSAVYFCAR	35
H2	RATLTAEKSTSTAYMQLSSLRSEDTAVYFCAR	38
H3	RATLTADKSTSTAYMQLSSLRSEDTAVYFCAR	40
H4	RATITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCAR	42
H5	RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCAR	43
	<u>X</u> (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	211
	R <u>X</u> T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	212
	R (A/V) <u>X</u> (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	213
	R (A/V) T <u>X</u> TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	214
	R (A/V) T (I/L) <u>X</u> ADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	215
	R (A/V) T (I/L) T <u>X</u> DKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	216
	R (A/V) T (I/L) TA <u>X</u> KSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	217
	R (A/V) T (I/L) TAD <u>X</u> STSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	218
	R (A/V) T (I/L) TADK <u>X</u> TSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	219
	R (A/V) T (I/L) TADKS <u>X</u> STAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	220
	R (A/V) T (I/L) TADKST <u>X</u> TAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	221
	R (A/V) T (I/L) TADKSTS <u>X</u> AYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	222
	R (A/V) T (I/L) TADKSTST <u>X</u> YM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	223
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAY <u>X</u> M (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	224
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAY <u>X</u> (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	225
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM <u>X</u> LSSLRSED (S/T) AVYFCAR	226
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) <u>X</u> SSLRSED (S/T) AVYFCAR	227
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) L <u>X</u> SLRSED (S/T) AVYFCAR	228
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LS <u>X</u> LRSED (S/T) AVYFCAR	229
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSS <u>X</u> RSED (S/T) AVYFCAR	230
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSL <u>X</u> SED (S/T) AVYFCAR	231
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLR <u>X</u> ED (S/T) AVYFCAR	232
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRS <u>X</u> D (S/T) AVYFCAR	233
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSE <u>X</u> (S/T) AVYFCAR	234
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED <u>X</u> AVYFCAR	235
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) <u>X</u> VYFCAR	236
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) A <u>X</u> YFCAR	237
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AV <u>X</u> FCAR	238
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVY <u>X</u> CAR	239
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYF <u>X</u> AR	240
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFC <u>X</u> R	241
	R (A/V) T (I/L) TADKSTSTAYM (E/Q) LSSLRSED (S/T) AVYFCAX	242

Tabla 19: FR4 VH

	FR4 VH	SEQ ID NO:
H1-H5	WGQGTTTVTVSS	36
	<u>X</u> GQGTTTVTVSS	243
	W <u>X</u> QGTTTVTVSS	244
	WG <u>X</u> GTTTVTVSS	245
	WGQ <u>X</u> TTTVTVSS	246
	WGQG <u>X</u> TVTVSS	247
	WGQGT <u>X</u> TVTVSS	248
	WGQGTT <u>X</u> TVSS	249
	WGQGTTV <u>X</u> VSS	250
	WGQGTTVT <u>X</u> SS	251
	WGQGTTTVT <u>X</u> S	252
	WGQGTTTVTV <u>X</u>	253

Tabla 20: FR1 VL

	FR1 VL	SEQ ID NO:
L1	DIVMTQSPSFLSASVGDRVITC	44
L2/L3/L4	DIVMTQSPSSLASVGDRVITC	48
	<u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	254
	D <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	255
	DI <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	256
	DIV <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	257
	DIVM <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	258
	DIVMT <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	259
	DIVMTQ <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	260
	DIVMTQS <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	261
	DIVMTQSP <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	262
	DIVMTQSPS <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	263
	DIVMTQSPS (F/S) <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	264
	DIVMTQSPS (F/S) L <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	265
	DIVMTQSPS (F/S) LS <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	266
	DIVMTQSPS (F/S) LSA <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	267
	DIVMTQSPS (F/S) LSAS <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	268
	DIVMTQSPS (F/S) LSASV <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	269
	DIVMTQSPS (F/S) LSASVG <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	270
	DIVMTQSPS (F/S) LSASVGDXIVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	271
	DIVMTQSPS (F/S) LSASVGDR <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	272
	DIVMTQSPS (F/S) LSASVGDRV <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	273
	DIVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVIT <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	274
	DIVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC <u>X</u> IVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVITC	275

	FR1 VL	SEQ ID NO:
	DIVMTQSPS (F/S) LSASVGDRVTIT <u>X</u>	276

Tabla 21: FR2 VL

	FR2 VL	SEQ ID NO:
L1/L2/L3	WYQQKPGKAPKALIIY	45
L4	WYQQKPGKAPKSLIIY	51
	<u>X</u> YQQKPGKAPK (S/A) LIY	277
	W <u>X</u> QQKPGKAPK (S/A) LIY	278
	WY <u>X</u> QKPGKAPK (S/A) LIY	279
	WYQ <u>X</u> KPGKAPK (S/A) LIY	280
	WYQQ <u>X</u> PGKAPK (S/A) LIY	281
	WYQQK <u>X</u> GKAPK (S/A) LIY	282
	WYQQKP <u>X</u> KAPK (S/A) LIY	283
	WYQQKPG <u>X</u> APK (S/A) LIY	284
	WYQQKPGK <u>X</u> PK (S/A) LIY	285
	WYQQKPGKA <u>X</u> K (S/A) LIY	286
	WYQQKPGKAP <u>X</u> (S/A) LIY	287
	WYQQKPGKAPK <u>X</u> LIY	288
	WYQQKPGKAPK (S/A) <u>X</u> IY	289
	WYQQKPGKAPK (S/A) L <u>X</u> Y	290
	WYQQKPGKAPK (S/A) LI <u>X</u>	291

Tabla 22: FR3 VL

	FR3 VL	SEQ ID NO:
L1	GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQSEDFADYFC	46
L2	GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFC	49
L3	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFC	50
L4	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	52
	<u>X</u> VPDF (S/T) GSGSGTDFTLTISSLQ(P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y)C	292
	G <u>X</u> PDF (S/T) GSGSGTDFTLTISSLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	293
	GV <u>X</u> DF (S/T) GSGSGTDFTLTISSLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	294
	GVP <u>X</u> RF (S/T) GSGSGTDFTLTISSLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	295
	GVPD <u>X</u> F (S/T) GSGSGTDFTLTISSLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	296
	GVPDR <u>X</u> (S/T) GSGSGTDFTLTISSLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	297
	GVPDRF <u>X</u> GSGSGTDFTLTISSLQ (P/S) EDFA(D/T)Y(F/Y)C	298
	GVPDRF (S/T) <u>X</u> SGSGTDFTLTISSLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	299
	GVPDRF (S/T) G <u>X</u> SGTDFTLTISSLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	300
	GVPDRF (S/T) GS <u>X</u> SGTDFTLTISSLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	301
	GVPDRF (S/T) GSG <u>X</u> GTDFTLTISSLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	302
	GVPDRF (S/T) GSGS <u>X</u> TDFTLTISSLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	303

	FR3 VL	SEQ ID NO:
	GVPDRF (S/T) GSGSG <u>X</u> DFTLTISLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	304
	GVPDRF (S/T) GSGSGT <u>X</u> FTLTISLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	305
	GVPDRF (S/T) GSGSGTD <u>X</u> TLTISLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	306
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDF <u>X</u> LTISLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	307
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFT <u>X</u> TISLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	308
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTL <u>X</u> ISLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	309
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTLT <u>X</u> SSLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	310
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTLT <u>X</u> SLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	311
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTLTIS <u>X</u> LQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	312
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTLTIS <u>X</u> Q (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	313
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTLTISLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) C	314
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTLTISLQ <u>X</u> EDFA(D/T)Y(F/Y)C	315
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTLTISLQ (P/S) <u>X</u> DFA (D/T) Y (F/Y) C	316
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTLTISLQ (P/S) E <u>X</u> FA (D/T) Y (F/Y) C	317
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTLTISLQ (P/S) ED <u>X</u> A (D/T) Y (F/Y) C	318
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTLTISLQ (P/S) EDF <u>X</u> (D/T) Y (F/Y) C	319
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTLTISLQ (P/S) EDFA <u>X</u> Y (F/Y) C	320
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTLTISLQ (P/S) EDFA (D/T) <u>X</u> (F/Y) C	321
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTLTISLQ (P/S) EDFA (D/T) Y <u>X</u> C	322
	GVPDRF (S/T) GSGSGTDFTLTISLQ (P/S) EDFA (D/T) Y (F/Y) <u>X</u>	323

Tabla 23: FR4 VL

	FR4 VL	SEQ ID NO:
L1-L4	FGGGTKVEIK	47
	<u>X</u> GGGTKVEIK	324
	F <u>X</u> GGGTKVEIK	325
	FG <u>X</u> GTKVEIK	326
	FGG <u>X</u> TKVEIK	327
	FGGG <u>X</u> KVEIK	328
	FGGGT <u>X</u> VEIK	329
	FGGGTK <u>X</u> EIK	330
	FGGGTKV <u>X</u> IK	331
	FGGGTKVE <u>X</u> K	332
	FGGGTKVEI <u>X</u>	333

En un aspecto, un anticuerpo descrito en la presente memoria comprende una región Fc que comprende una o más deleciones, adiciones y/o modificaciones de aminoácidos.

Una "región Fc", según se usa en la presente memoria, incluye polipéptidos que comprenden una región constante de un anticuerpo que excluye el primer dominio de inmunoglobulina de la región constante y, así, se refiere a los dos últimos dominios de inmunoglobulina de la región constante, de IgA, IgD e IgG, los tres últimos dominios de inmunoglobulina de la región constante de IgE e IgM, y el N-terminal de la bisagra flexible a estos dominios. Para la IgA y la IgM, una región Fc puede incluir la cadena J. Para la IgG, una región Fc puede comprender dominios de inmunoglobulina Cgamma2 y Cgamma3 (Cy2 y Cy3) y la bisagra entre Cgamma1 (Cy1) y Cgamma2 (Cy2). Aunque los límites de una región Fc pueden variar, la región Fc de cadena pesada de la IgG humana generalmente

comprende residuos C226 o P230 a su terminal carboxilo, siendo la numeración según el Índice EU, como en Kabat *et al.* (1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Service, Springfield, Virginia). El “índice EU definido en Kabat” se refiere a la numeración de residuos del anticuerpo EU de la IgG1 humana según se describe en Kabat *et al. supra*. En cierta realización, una región Fc comprende una región Fc que no se da de forma natural.

5 En ciertos aspectos, hay presentes uno o más polimorfismos en una o más posiciones de Fc, incluyendo, sin limitación, Kabat 270, 272, 312, 315, 356 y 358.

En un aspecto, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo, descrito en la presente memoria, que se une específicamente a una región D4 de KIT, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región Fc que tiene propiedades de unión alteradas para un ligando de Fc (por ejemplo, un receptor Fc, tal como C1q) con respecto a un anticuerpo comparable (por ejemplo, uno que tenga la misma secuencia de aminoácidos, salvo en que

10 tiene una región Fc de la forma natural).

Las afinidades y las propiedades de unión de una región Fc para su ligando pueden ser determinadas mediante diversos métodos de ensayo *in vitro* (ensayos de tipo bioquímico o inmunológico) conocidos en la técnica para determinar las interacciones Fc-FcγR, es decir, la unión específica de una región Fc a una FcγR, incluyendo, sin limitación, métodos de equilibrio (por ejemplo, el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), o el radioinmunoensayo (RIA)), o la cinética (por ejemplo, análisis BIACORE®), y otros métodos, tales como ensayos de unión indirecta, ensayos de inhibición competitiva, transferencia de energía de resonancia de fluorescencia (FRET), electroforesis y cromatografía en gel (por ejemplo, filtración en gel). Estos y otros métodos pueden utilizar un

15 marcador en uno o más de los componentes que se estén examinando y/o emplear diversos métodos de detección, incluyendo, sin limitación, marcadores cromogénicos, fluorescentes, luminiscentes o isotópicos.

20

En una realización, una región Fc de un anticuerpo descrito en la presente memoria tiene una unión mejorada a uno o más ligandos de Fc con respecto a una molécula comparable. En una realización específica, una región Fc de un anticuerpo descrito en la presente memoria tiene una unión mejorada a un receptor Fc. En otra realización específica, una región Fc de un anticuerpo descrito en la presente memoria tiene una unión mejorada al receptor Fc FcγRIIIA. En una realización específica, una región Fc de un anticuerpo descrito en la presente memoria tiene una unión mejorada al receptor Fc FcRn. En otra realización específica, una región Fc de un anticuerpo descrito en la presente memoria tiene una unión mejorada a C1q con respecto a una molécula comparable.

25

En cierto aspecto, la vida media sérica de las proteínas que comprenden regiones Fc puede ser aumentada incrementando la afinidad de unión de la región Fc hacia FcRn. En una realización, una región Fc de un anticuerpo descrito en la presente memoria tiene una vida media sérica mejorada con respecto a una molécula comparable.

30

“Citotoxicidad arbitrada por células dependiente de anticuerpos” o “ADCC” se refiere a una forma de citotoxicidad en la que la Ig segregada unida a los receptores Fc (FcRs) presentes en ciertas células citotóxicas (por ejemplo, células asesinas (NK), neutrófilos y macrófagos) permite que estas células citotóxicas se unan específicamente a una célula diana portadora de un antígeno y, posteriormente, maten a la célula diana con citotoxinas. Anticuerpos específicos de IgG de alta afinidad dirigidos a la superficie de las células diana “arman” las células citotóxicas para tal muerte. La lisis de la célula diana implica un contacto directo entre células, y no implica complemento. Se contempla que, además de anticuerpos, otras proteínas que comprendan regiones Fc, específicamente proteínas de fusión de Fc, que tengan la capacidad de unirse específicamente a una célula diana portadora de un antígeno, puedan efectuar la citotoxicidad arbitrada por células. En aras de la simplicidad, la citotoxicidad arbitrada por células resultante de la actividad de una proteína de fusión de Fc también es denominada en la presente memoria actividad ADCC.

35

40

Se puede someter a ensayo la capacidad de cualquier proteína particular —por ejemplo, un anticuerpo— que comprenda una región Fc para arbitrar la lisis de la célula diana por ADCC. Para evaluar la actividad ADCC de una región Fc, se añade un anticuerpo de unión a células diana que comprende la región Fc a células diana en combinación con células efectoras inmunitarias, que pueden ser activadas por los complejos antígeno-anticuerpo, dando como resultado la citólisis de la célula diana. La citólisis se detecta generalmente por la liberación del marcador (por ejemplo, sustratos radiactivos, tinciones fluorescentes o proteínas intercelulares naturales) de las células lisadas. Células efectoras útiles para tales ensayos incluyen las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y las células asesinas (NK). Ejemplos específicos de ensayos de ADCC *in vitro* aparecen descritos en Wisecarver *et al.*, 1985 79:277-282; Bruggemann *et al.*, 1987, *J Exp. Med.* 166:1351-1361; Wilkinson *et al.*, 2001, *J Immunol. Methods* 258:183-191; Patel *et al.*, 1995 *J Immunol. Methods* 184:29-38. Alternativamente, o además, la actividad ADCC de una proteína que comprende una región Fc puede ser evaluada *in vivo*, por ejemplo, en un modelo animal tal como el dado a conocer en Clynes *et al.*, 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:652-656.

45

50

En una realización, una proteína —por ejemplo, un anticuerpo descrito en la presente memoria— que comprende una región Fc tiene mayor actividad ADCC con respecto a una proteína comparable —por ejemplo, un anticuerpo—. En otra realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria que comprende una región Fc tiene una unión mejorada al receptor Fc FcγRIIIA y tiene mayor actividad ADCC con respecto a un anticuerpo a comparable. En algunas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria que comprende una región Fc tiene tanto mayor actividad ADCC como mayor vida media sérica en comparación con un anticuerpo comparable.

55

“Citotoxicidad dependiente de complemento” y “CDC” se refiere al lisado de una célula diana en presencia de un complemento. El sistema de activación del complemento es iniciado por la unión del primer componente del sistema del complemento (C1q) con una molécula —por ejemplo, un anticuerpo— que forma un complejo con un antígeno afín. Para evaluar la activación del complemento, puede llevarse a cabo, por ejemplo, un ensayo de CDC, según se describe en Gazzano-Santoro et al., 1996, *J. Immunol. Methods*, 202:163. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria que comprende una región Fc tiene mayor actividad CDC en comparación con un anticuerpo comparable. En otras realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria que comprende una región Fc tiene tanto mayor actividad CDC como mayor vida media sérica en comparación con un anticuerpo comparable.

En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria comprende una región Fc que comprende una modificación de aminoácidos (por ejemplo, una sustitución una delección o una adición) o un residuo de aminoácido que no se dé de forma natural en una o más posiciones (por ejemplo, en una, dos, tres o cuatro posiciones) seleccionadas del grupo constituido por 234, 235, 236, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 252, 254, 256, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 269, 296, 297, 298, 299, 313, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 332, 333 y 334 según numera el índice EU definido en Kabat. Opcionalmente, la región Fc puede comprender una modificación de aminoácidos (por ejemplo, una sustitución una delección o una adición) o un residuo de aminoácido que no se dé de forma natural en posiciones adicionales y/o alternativas conocidas para un experto en la técnica (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses 5.624.821; 6.277.375; 6.737.056; las publicaciones de patentes de PCT WO 01/58957; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752 y WO 05/040217, en particular para la divulgación de tales modificaciones). En una realización adicional, una o más funciones de una región Fc son mantenidas (por ejemplo, sustancialmente mantenidas; por ejemplo, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 95%) por la región Fc que comprende una modificación de aminoácidos (por ejemplo, una sustitución una delección o una adición) o un residuo de aminoácido que no se dé de forma natural en una o más posiciones. Por ejemplo, tales funciones Fc pueden incluir una función efectora, tal como CDC o ADCC, o la afinidad de unión a un receptor Fc. En cierta realización, la región Fc, que comprende una modificación de aminoácidos (por ejemplo, una sustitución una delección o una adición) o un residuo de aminoácido que no se dé de forma natural en una o más posiciones, presenta al menos uno o más de una mayor actividad Fc —por ejemplo, mayor vida media— o una función efectora, tal como ADCC o CDC, mejorada. En una realización particular, la región Fc, que comprende una modificación de aminoácidos (por ejemplo, una sustitución una delección o una adición) o un residuo de aminoácido que no se dé de forma natural en una o más posiciones, presenta una menor actividad Fc —por ejemplo, menor estabilidad/vida media— o una función efectora, tal como ADCC o CDC, disminuida.

En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria comprende una región Fc, comprendiendo la región Fc al menos una (por ejemplo, una, dos, tres o cuatro) modificaciones de aminoácidos (por ejemplo, una sustitución una delección o una adición) o al menos un residuo de aminoácido que no se dé de forma natural (por ejemplo, uno, dos, tres o cuatro) seleccionadas del grupo constituido por 234D, 234E, 234N, 234Q, 234T, 234H, 234Y, 234I, 234V, 234F, 235A, 235D, 235R, 235W, 235P, 235S, 235N, 235Q, 235T, 235H, 235Y, 235I, 235V, 235F, 236E, 239D, 239E, 239N, 239Q, 239F, 239T, 239H, 239Y, 240I, 240A, 240T, 240M, 241W, 241 L, 241Y, 241E, 241 R, 243W, 243L 243Y, 243R, 243Q, 244H, 245A, 247V, 247G, 252Y, 254T, 256E, 262I, 262A, 262T, 262E, 263I, 263A, 263T, 263M, 264L, 264I, 264W, 264T, 264R, 264F, 264M, 264Y, 264E, 265G, 265N, 265Q, 265Y, 265F, 265V, 265I, 265L, 265H, 265T, 266I, 266A, 266T, 266M, 267Q, 267L, 269H, 269Y, 269F, 269R, 269E, 296Q, 296D, 296N, 296S, 296T, 296L, 296I, 296H, 269G, 297S, 297D, 297E, 298H, 298I, 298T, 298F, 299I, 299L, 299A, 299S, 299V, 299H, 299F, 299E, 313F, 325Q, 325L, 325I, 325D, 325E, 325A, 325T, 325V, 325H, 327G, 327W, 327N, 327L, 328S, 328M, 328D, 328E, 328N, 328Q, 328F, 328I, 328V, 328T, 328H, 328A, 329F, 329H, 329Q, 330K, 330G, 330T, 330C, 330L, 330Y, 330V, 330I, 330F, 330R, 330H, 332D, 332S, 332W, 332F, 332E, 332N, 332Q, 332T, 332H, 332Y y 332A según numera el índice EU definido en Kabat. Opcionalmente, la región Fc puede comprender residuos de aminoácido adicionales y/o alternativos o que no se den de forma natural conocidos para un experto en la técnica (véase, por ejemplo, las patentes estadounidenses 5.624.821; 6.277.375; 6.737.056; las publicaciones de patentes de PCT WO 01/58957; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752 y WO 05/040217).

En cierto aspecto, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que comprende una región Fc, comprendiendo la región Fc al menos un aminoácido que no se da de forma natural en una o más posiciones seleccionadas del grupo constituido por 239, 330 y 332, según numera el índice EU definido en Kabat. En una realización específica, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que comprende una región Fc, comprendiendo la región Fc al menos un aminoácido que no se da de forma natural seleccionado del grupo constituido por 239D, 330L y 332E, según numera el índice EU definido en Kabat. Opcionalmente, la región Fc puede comprender, además, un aminoácido adicional que no se da de forma natural en una o más posiciones seleccionadas del grupo constituido por 252, 254 y 256, según numera el índice EU definido en Kabat. En una realización específica, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que comprende una región Fc, comprendiendo la región Fc al menos un aminoácido que no se da de forma natural seleccionado del grupo constituido por 239D, 330L y 332E, según numera el índice EU definido en Kabat y al menos un aminoácido que no se da de forma natural en una o más posiciones, que se seleccionan del grupo constituido por 252Y, 254T y 256E, según numera el índice EU definido en Kabat. En una realización, una región Fc que comprende tal secuencia presenta una o más actividades Fc; por ejemplo, afinidad de unión a un receptor Fc o función efectora, tal como ADCC o CDC. En una realización específica, una región Fc que comprende tal secuencia presenta una actividad Fc reducida; por ejemplo, afinidad de unión reducida a un receptor Fc o función efectora, tal como ADCC o CDC,

reducida. En una realización particular, una región Fc que comprende tal secuencia presenta una actividad Fc mejorada; por ejemplo, mayor vida media, afinidad de unión mejorada a un receptor Fc, o función efectora, tal como ADCC o CDC, mejorada.

Ghetie et al., 1997, *Nat Biotech.* 15:637-40; Duncan et al., 1988, *Nature* 332:563-564; Lund et al., 1991, *J. Immunol* 147:2657-2662; Lund et al., 1992, *Mol Immunol* 29:53-59; Alegre et al., 1994, *Transplantation* 57:1537-1543; Hutchins et al., 1995, *Proc Natl. Acad Sci U S A* 92:11980-11984; Jefferis et al., 1995, *Immunol Lett.* 44:111-117; Lund et al., 1995, *Faseb J* 9:115-119; Jefferis et al., 1996, *Immunol Lett* 54:101-104; Lund et al., 1996, *J Immunol* 157:4963-4969; Armour et al., 1999, *Eur J Immunol* 29:2613-2624; Idusogie et al., 2000, *J Immunol* 164:4178-4184; Reddy et al., 2000, *J Immunol* 164:1925-1933; Xu et al., 2000, *Cell Immunol* 200:16-26; Idusogie et al., 2001, *J Immunol* 166:2571-2575; Shields et al., 2001, *J Biol Chem* 276:6591-6604; Jefferis et al., 2002, *Immunol Lett* 82:57-65; Presta et al., 2002, *Biochem Soc Trans* 30:487-490; las patentes estadounidenses n^{os} 5.624.821; 5.885.573; 5.677.425; 6.165.745; 6.277.375; 5.869.046; 6.121.022; 5.624.821; 5.648.260; 6.528.624; 6.194.551; 6.737.056; 6.821.505; 6.277.375; 8.163.882; 7.355.008; 7.960.512; 8.039.592; 8.039.359; 8.101.720; 7.214.775; 7.682.610; 7.741.442; la publicación de patente estadounidense n^o 2004/0002587 y las publicaciones PCT WO 94/29351; WO 99/58572; WO 00/42072; WO 04/029207; WO 04/099249; WO 04/063351 proporcionan ejemplos no limitantes de modificaciones de la región Fc.

En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria comprende una o más (por ejemplo, una, dos, tres o cuatro) modificaciones a una región Fc de IgG1, tal como una región Fc IgG1 humana. En cierta realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria comprende una o más (por ejemplo, una, dos, tres o cuatro) modificaciones a una región Fc de IgG2, tal como una región Fc IgG2 humana. En una realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria comprende una o más (por ejemplo, una, dos, tres o cuatro) modificaciones a una región Fc de IgG4, tal como una región Fc IgG4 humana.

En algunos aspectos, un anticuerpo descrito en la presente memoria comprende una región Fc, comprendiendo la región Fc una o más (por ejemplo, una, dos, tres o cuatro) modificaciones de glucoformas (por ejemplo, la eliminación o la sustitución de una o más glucoformas), tales como glucoformas de diseño; es decir, una composición de hidrato de carbono que está covalentemente unida a una molécula que comprende una región Fc. Las glucoformas de diseño pueden ser útiles para diversos fines, incluyendo, sin limitación, potenciar o reducir la función efectora. Las glucoformas de diseño pueden ser generadas por cualquier método conocido para un experto en la técnica; por ejemplo usando cepas de diseño o de expresión variante, mediante coexpresión con una o más enzimas —por ejemplo DI N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnT11)—, expresando una molécula que comprende una región Fc en diversos organismos o líneas celulares de diversos organismos, o modificando uno varios hidratos de carbono después de que la molécula que comprende la región Fc haya sido expresada. En la técnica se conocen métodos para la generación de glucoformas de diseño, e incluyen, sin limitación, los descritos en Umana et al., 1999, *Nat. Biotechnol* 17:176-180; Davies et al., 2001 *Biotechnol Bioeng* 74:288-294; Shields et al., 2002, *J Biol Chem* 277:26733-26740; Shinkawa et al., 2003, *J Biol Chem* 278:3466-3473), la patente estadounidense n^o 6.602.684; la publicación de solicitud de patente estadounidense n^o US 2003/0157108 A1; la publicación de solicitud de patente estadounidense n^o US 2003/0003097 A1; el documento PCT WO 00/61739A1; el documento PCT WO 01/292246A1; el documento PCT WO 02/311140A1; el documento PCT WO 02/30954A1; el documento WO 00061739; el documento US 20030115614; y Okazaki et al., 2004, *JMB*, 336: 1239-49. En la técnica se describen métodos para generar glucoformas modificadas de un anticuerpo descrito en la presente memoria, e incluyen, sin limitación, los escritos en la patente estadounidense n^o 7.517.670; en la patente estadounidense n^o 8.021.856; en la patente estadounidense n^o 8.080.415; en la patente estadounidense n^o 8.084.222; en la patente estadounidense n^o 7.700.321; y en la patente estadounidense n^o 8.071.336.

En una realización particular, glucosilación de una región Fc puede ser modificada para aumentar o disminuir la función efectora. En consecuencia, en una realización, una región Fc de un anticuerpo descrito en la presente memoria comprende glucosilación modificada de residuos de aminoácido. En otra realización, la glucosilación modificada de residuos de aminoácido da lugar a una función efectora, tal como ADCC o CDC, disminuida. En otra realización, la glucosilación modificada de los residuos de aminoácido da lugar a una función efectora incrementada. En algunas realizaciones, los patrones de glucosilación de los anticuerpos proporcionados en la presente memoria son modificados para potenciar la función efectora de ADCC y CDC (véanse, por ejemplo, Shields et al., (2002) *JBC*. 277:26733; Shinkawa et al., (2003) *JBC*. 278:3466 y Okazaki et al., (2004) *J. Mol. Biol.*, 336: 1239). En una realización específica, tal glucosilación modificada es diferente de la glucosilación de una región Fc encontrada de forma natural *in vivo*, o tal glucosilación modificada es una glucosilación que no se da de forma natural de una región Fc. Por ejemplo, puede lograrse la glucosilación modificada de una región Fc modificando un aminoácido o expresando la proteína o el anticuerpo en una célula que ha sido diseñada para que contenga una maquinaria de glucosilación diferente de la de su célula progenitora que no ha sido modificada. En este sentido, tal célula puede ser diseñada para que no exprese cierta enzima de glucosilación o para que exprese cierta enzima de glucosilación que no está presente en la célula progenitora.

En la técnica se conocen métodos para generar regiones Fc que no se dan de forma natural. Por ejemplo, pueden generarse sustituciones y/o deleciones de aminoácidos por métodos de mutagénesis, incluyendo, sin limitación, una mutagénesis dirigida al sitio (Kunkel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:488-492 (1985)), mutagénesis por PCR (Higuchi,

en "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications", Academic Press, San Diego, pp. 177-183 (1990)), y mutagénesis por inserción de un casete (Wells et al., *Gene* 34:315-323 (1985)). La mutagénesis dirigida al sitio se puede llevar a cabo por el método de PCR de superposición y extensión (Higuchi, en "PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification", Stockton Press, Nueva York, pp. 61-70 (1989)). Alternativamente, puede usarse la técnica de PCR de superposición y extensión (Higuchi, *ibíd.*) para introducir cualquier mutación o mutaciones cualesquiera en una secuencia diana (el ADN de partida). En la técnica se conocen otros métodos útiles para la generación de modificaciones en la región Fc (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses n^{os} 5.624.821; 5.885.573; 5.677.425; 6.165.745; 6.277.375; 5.869.046; 6.121.022; 5.624.821; 5.648.260; 6.528.624; 6.194.551; 6.737.056; 6.821.505; 6.277.375; la publicación de patente estadounidense n^o 2004/0002587 y las publicaciones PCT WO 94/29351; WO 99/58572; WO 00/42072; WO 02/060919; WO 04/029207; WO 04/099249; WO 04/063351).

En una realización específica, la región Fc tiene fucosilación reducida. En otra realización, la región Fc está afucosilada (véase, por ejemplo, la publicación de patente estadounidense n^o 2005/0226867).

En cierto aspecto, un anticuerpo descrito en la presente memoria es un anticuerpo no fucosilado; por ejemplo, a una región Fc del anticuerpo no contiene cadenas de azúcar con una fucosa —por ejemplo, una fucosa unida a N-acetilglucosaminas (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses n^{os} 7.214.775; 7.682.610; y 7.741.442)—. En la técnica se conocen métodos para hacer anticuerpos no fucosilados (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n^o 7,708,992. Por ejemplo, pueden generarse anticuerpos no fucosilados usando células anfitrionas de diseño; véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses n^{os} 6.946.292; 7.425.446; 8.067.232; 7.846.725; y 7.393.683. También se han descrito animales con genes bloqueados para generar anticuerpos no fucosilados; véase, por ejemplo, la patente estadounidense n^o 7.737.325. En una realización particular, un anticuerpo no fucosilado descrito en la presente memoria, que se une específicamente a una región D4 del KIT humano, presenta mayor ADCC.

En un aspecto particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria comprende un contenido de fucosa inferior al 100%, por ejemplo, inferior al 65%, con respecto al contenido de fucosa de un anticuerpo de referencia (véase, por ejemplo, las patentes estadounidenses n^{os} 7.931.895 y 7.846.434). En cierta realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria se caracteriza por un contenido de fucosa en el que al menos aproximadamente el 60% de los oligosacáridos de enlace N —por ejemplo, oligosacáridos de enlace N en los dominios con derivación CH2— no contiene fucosa alguna. En realizaciones específicas, el porcentaje de oligosacáridos de enlace N —por ejemplo, oligosacáridos de enlace N en los dominios con derivación CH2— que no contiene fucosa alguna es de al menos aproximadamente el 65%, aproximadamente el 70%, aproximadamente el 75%, aproximadamente el 80%, aproximadamente el 85%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 95% o más, y presenta una función efectora alterada; por ejemplo, mayor ADCC o ADCC reducida. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une específicamente a una región D4 del KIT humano, comprende un contenido de fucosa inferior al 65% y presenta mayor ADCC.

En aspectos particulares, un anticuerpo descrito en la presente memoria comprende una región Fc con una actividad de unión alterada de FcγR que presenta una unión reducida a una FcγR y comprende una modificación de aminoácidos en una o más (por ejemplo, una, dos, tres o cuatro) posiciones cualesquiera de aminoácidos 238, 239, 248, 249, 252, 254, 265, 268, 269, 270, 272, 278, 289, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 322, 324, 327, 329, 333, 335, 338, 340, 373, 376, 382, 388, 389, 414, 416, 419, 434, 435, 437, 438 o 439 de la región Fc, siendo la numeración de los residuos en la región Fc la del índice EU como en Kabat (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n^o 7.183.387). Por ejemplo, un anticuerpo descrito en la presente memoria que comprende una región Fc presenta una unión reducida a una FcγR y comprende una modificación de aminoácidos en una o más (por ejemplo, una, dos, tres o cuatro) posiciones cualesquiera de aminoácidos 238, 265, 269, 270, 327 o 329 de la región Fc, siendo la numeración de los residuos en la región Fc la del índice EU como en Kabat.

En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria que comprende una región Fc presenta una unión reducida a una FcγRII y comprende una modificación de aminoácidos en una o más (por ejemplo, una, dos, tres o cuatro) posiciones cualesquiera de aminoácidos 238, 265, 269, 270, 292, 294, 295, 298, 303, 324, 327, 329, 333, 335, 338, 373, 376, 414, 416, 419, 435, 438 o 439 de la región Fc, siendo la numeración de los residuos en la región Fc la del índice EU como en Kabat.

En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria que comprende una región Fc presenta una unión reducida a una FcγRIII y comprende una modificación de aminoácidos en una o más (por ejemplo, una, dos, tres o cuatro) posiciones cualesquiera de aminoácidos 238, 239, 248, 249, 252, 254, 265, 268, 269, 270, 272, 278, 289, 293, 294, 295, 296, 301, 303, 322, 327, 329, 338, 340, 373, 376, 382, 388, 389, 416, 434, 435 o 437 de la región Fc, siendo la numeración de los residuos en la región Fc la del índice EU como en Kabat.

En ciertos aspectos, la vida media sérica de una proteína, tal como un anticuerpo descrito en la presente memoria, que comprende una región Fc, se incrementa aumentando la afinidad de unión de una región Fc hacia FcRn.

En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo se une específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano) con un valor de CE_{50} (máxima concentración media efectiva) de aproximadamente 50 nM o menor determinado por ELISA.

5 En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo se une específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano) con un valor CE_{50} de aproximadamente 150 pM o menor determinado por FACS con células CHO-WT-KIT (células CHO diseñadas para expresar de forma recombinante el KIT humano de la forma natural).

10 En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), es capaz de bloquear la fosforilación de KIT con un valor de CI_{50} (concentración de inhibición del 50%) de aproximadamente 600 pM o menos.

15 En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), es expresado de forma recombinante en células CHO con una concentración media de al menos 0,5 $\mu\text{g/mL}$. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), es expresado de forma recombinante en células CHO con una concentración media de al menos 1,0 $\mu\text{g/mL}$.

20 En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano), comprende un dominio VH y un dominio VL que son no inmunogénicos; por ejemplo, el dominio VH y el dominio VL no contienen epítopos de células T.

25 En realizaciones particulares, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) no se une al sitio de KIT de unión a ligandos extracelulares; por ejemplo, el sitio de KIT de unión al SCF. En realizaciones particulares, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) no inhibe la unión de ligandos a KIT; por ejemplo, no inhibe que un ligando de KIT (por ejemplo, el SCF) se una a KIT.

30 En aspectos específicos, anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos humanos o humanizados) descritos en la presente memoria son anticuerpos inhibidores; es decir, anticuerpos que inhiben (por ejemplo, que inhiben parcialmente) la actividad del KIT; es decir, una o más actividades de KIT. En una realización específica, una inhibición parcial de una actividad del KIT da lugar, por ejemplo, a una inhibición de aproximadamente el 25% a aproximadamente el 65% o el 75%. En una realización específica, una inhibición parcial de una actividad del KIT da lugar, por ejemplo, a una inhibición de aproximadamente el 35% a aproximadamente el 85% o el 95%. Ejemplos no limitantes de actividades de KIT incluyen la dimerización del KIT, la fosforilación del KIT (por ejemplo, la fosforilación de la tirosina), la señalización aguas abajo del KIT (por ejemplo, la señalización Stat, AKT, MAPK, o Ras), la inducción o la potenciación de la transcripción génica (por ejemplo, c-Myc), la inducción o la potenciación de la proliferación celular o de la supervivencia celular. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria inhibe la fosforilación del KIT (por ejemplo, la fosforilación inducida por ligandos). En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria inhibe la fosforilación de la tirosina de KIT en el dominio citoplasmático de KIT. En otra realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria inhibe la proliferación celular. En otra realización particular adicional, un anticuerpo descrito en la presente memoria inhibe la supervivencia celular. En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria induce la apoptosis. En otra realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria induce la diferenciación celular; por ejemplo, la diferenciación celular en una célula que expresa el KIT; por ejemplo, del KIT humano. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria inhibe actividad del KIT, pero no inhibe la dimerización del KIT. En otra realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria inhibe la actividad del KIT y no inhibe la unión de ligandos al KIT; por ejemplo, no inhibe que un ligando de KIT (por ejemplo, el SCF) se una a KIT, pero sí inhibe la dimerización del KIT.

50 En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria inhibe una actividad del KIT, tal como la fosforilación de la tirosina inducida por ligandos de un dominio citoplasmático de KIT, en aproximadamente entre un 25% y aproximadamente un 65% o un 75%, según determina un ensayo de fosforilación de tipo celular bien conocido en la técnica; por ejemplo, el ensayo de fosforilación a base de células descrito en la presente memoria. En cierta realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria inhibe una actividad del KIT, tal como la fosforilación de la tirosina inducida por ligandos de un dominio citoplasmático de KIT, en aproximadamente entre un 35% y aproximadamente un 85% o un 95%, según determina un ensayo de fosforilación a base de células bien conocido en la técnica; por ejemplo, el ensayo de fosforilación a base de células descrito en la presente memoria. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo, inhibe una actividad del KIT, tal como la fosforilación de la tirosina inducida por ligandos de un dominio citoplasmático de KIT, con una concentración de inhibición del 50% (CI_{50}) inferior a aproximadamente 600 pM, o inferior a aproximadamente 500 pM, o inferior a aproximadamente 250 pM, según determina un ensayo de fosforilación a base de células bien conocido en la técnica; por ejemplo, el ensayo de

fosforilación a base de células descrito en la presente memoria. En una realización específica, la CI_{50} es inferior a aproximadamente 550 pM o a 200 pM. En una realización específica, la CI_{50} está en el intervalo de aproximadamente 50 pM a aproximadamente 225 pM, o en el intervalo de 100 pM a aproximadamente 600 pM. En una realización específica, la CI_{50} está en el intervalo de aproximadamente 50 pM a aproximadamente 550 pM, o de aproximadamente 50 pM a aproximadamente 600 pM, o de aproximadamente 150 pM a aproximadamente 550 pM.

En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo, (i) se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT que comprende la región D4 del KIT humano, (ii) inhibe la fosforilación del KIT (por ejemplo, la fosforilación de la tirosina), y (iii) no afecta que el ligando de KIT (por ejemplo, el SCF) se una al KIT. En otra realización específica adicional, tal anticuerpo no inhibe la dimerización del KIT. En otra realización específica adicional, tal anticuerpo puede ser expresado de forma recombinante por células CHO con una concentración media de al menos 0,5 µg/mL, por ejemplo al menos 1,0 µg/mL. En una realización específica adicional, tal anticuerpo comprende un dominio VH y un dominio VL que son no inmunogénicos; por ejemplo, el dominio VH y el dominio VL no contienen epítopos de células T.

En otras realizaciones específicas, un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo, se une inmuno-específicamente a una forma monomérica de KIT (por ejemplo, del KIT humano). En realizaciones particulares, un anticuerpo descrito en la presente memoria no se une inmuno-específicamente a una forma monomérica de KIT (por ejemplo, del KIT humano). En realizaciones específicas, un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo, se une inmuno-específicamente a una forma dimerica de KIT (por ejemplo, del KIT humano). En realizaciones específicas, un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo, no se une a una forma monomérica de KIT y se une específicamente a una forma dimerica de KIT o a una forma multimérica de KIT. En ciertas realizaciones, un anticuerpo tiene mayor afinidad hacia un monómero de KIT que hacia un dímero de KIT. En ciertas realizaciones, un anticuerpo tiene mayor afinidad hacia un monómero de KIT que hacia un multímero de KIT.

En realizaciones específicas, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo) se une específicamente a una isoforma nativa o una variante nativa de KIT (es decir, una isoforma o una variante de KIT que se den de forma natural en un animal (por ejemplo, mono, ratón, cabra, asno, perro, gato, conejo, cerdo, rata, un ser humano, o rana o un ave) que pueda ser aislada de un animal, preferentemente un ser humano). En realizaciones particulares, un anticuerpo descrito en la presente memoria se une inmuno-específicamente a KIT humano o un fragmento del mismo. En realizaciones específicas, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo) se une específicamente a KIT humano o un fragmento del mismo y no se une específicamente a un KIT no humano (por ejemplo, de mono, ratón, cabra, asno, perro, gato, conejo, cerdo, rata o ave) o un fragmento del mismo. En realizaciones específicas, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo) se une específicamente a KIT humano o un fragmento del mismo y no se une específicamente a KIT murino. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria se une específicamente a KIT humano o un fragmento del mismo (por ejemplo, a una región D4 del KIT humano) y a KIT canino (de perro) y de primate no humano (por ejemplo, mono). En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria se une específicamente a KIT humano o un fragmento del mismo (por ejemplo, a una región D4 del KIT humano) y a KIT canino (de perro). En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria se une específicamente a KIT humano o un fragmento del mismo (por ejemplo, a una región D4 del KIT humano) y a KIT de un primate no humano (por ejemplo, mono). En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria se une específicamente a KIT humano o un fragmento del mismo (por ejemplo, a una región D4 del KIT humano) y a KIT canino (de perro) y de primate no humano (por ejemplo, mono), pero no se une específicamente a KIT murino o un fragmento del mismo (por ejemplo, una región D4 de KIT murino).

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo se une a un dominio extracelular del KIT humano que comprende una mutación; por ejemplo, una mutación somática asociada con el cáncer (por ejemplo, GIST), tal como una mutación en el exón 9 del KIT humano en la que están duplicados los residuos Ala y Tyr en las posiciones 502 y 503. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo se une a un dominio extracelular del KIT humano de la forma natural y a un dominio extracelular del KIT humano que comprende una mutación, por ejemplo una mutación somática asociada con el cáncer (por ejemplo, GIST), tal como una mutación en el exón 9 del KIT humano en la que están duplicados los residuos Ala y Tyr en las posiciones 502 y 503 (véanse, por ejemplo, Marcia et al., (2000) *Am. J. Pathol.* 156(3):791-795; y Debiec-Rychter et al., (2004) *European Journal of Cancer*. 40:689-695, que describen mutaciones de KIT).

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo se une a un dominio extracelular del KIT humano que está glucosilado. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo se une a dos formas glucosiladas diferentes de un dominio extracelular del KIT humano. Por ejemplo, por inmunotransferencia se han

observado dos formas del KIT humano con diferentes pesos moleculares, lo que indica diferentes patrones de glucosilación. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede unirse específicamente a estos dos formas del KIT humano que tienen diferentes patrones de glucosilación; por ejemplo, una forma está más glucosilada que la otra. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo se une a un dominio extracelular del KIT humano que no está glucosilado.

En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria no se une inmuno-específicamente a un epítipo de KIT descrito por la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2008/153926; por ejemplo un epítipo constituido esencialmente por la secuencia de aminoácidos SELHLTRLKGTEGGTYT (SEQ ID NO: 38) o LTRLKGTEGG (SEQ ID NO: 39).

En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria no es un anticuerpo seleccionado del grupo constituido por: anticuerpo SR-1 (véanse la publicación de solicitud de patente estadounidense nº US 2007/0253951 A1; la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2007/127317); anticuerpo anti KIT obtenido de líneas celulares de hibridoma DSM ACC 2007, DSM ACC 2008, o DSM ACC 2009, que han sido depositadas en la Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, DSM, Mascheroder Weg 1 b, D-38124 Braunschweig, Alemania (véanse la patente estadounidense nº 5,545,533; la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 92/ 021766); anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma DSM ACC 2247 (o A3C6E2; depósito nº DSM ACC 2247, en la Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, DSM, Mascheroder Weg 1 b, D-38124 Braunschweig, Alemania) (véase la patente estadounidense nº 5,808,002); y anticuerpos anti KIT designados K27, K44, K45, K49, K57, K69 y K94 (véanse, por ejemplo, Blechman et al., *Stem Cells*, 1993, 11:12-21; Blechman et al., *Cell*, 1995, 80:103-113; Lev et al., *Mol. Cell. Biol.*, 1993, 13:2224-2234; y la publicación de solicitud de patente europea nº EP0548867 A2). En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria no comprende una CDR de un anticuerpo seleccionado de tal grupo. En realizaciones particulares, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria no comprende una o más (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco o seis) CDR (por ejemplo, 3 CDR VL y/o 3 CDR VH) de un anticuerpo seleccionado de tal grupo. En otra realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria no es bloqueado de forma competitiva (por ejemplo, bloqueado de forma competitiva en una manera dependiente de la dosis) por uno de esos anticuerpos, según determinan, por ejemplo, ensayos de unión de competición (por ejemplo, los ELISA). En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria no es un anticuerpo Ab1 o Ab21, que es descrito en la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2011/119948 A1. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria no es un anticuerpo seleccionado del grupo constituido por: Ab1 Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab12, Ab13, Ab14, Ab15, Ab16, Ab17, Ab18, Ab19, Ab20 y Ab21, descritos en la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2011/119948 A1 ni de Ab24-Ab192, descritos en la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2011/119948. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria no comprende una CDR, o una o más CDR (por ejemplo, 3 CDR VL y/o 3 CDR VH), de un anticuerpo seleccionado del grupo constituido por: Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab12, Ab13, Ab14, Ab15, Ab16, Ab17, Ab18, Ab19, Ab20 y Ab21, descritos en la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2011/119948 A1, y Ab24-Ab192, descritos en la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2011/119948. En realizaciones particulares, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria no comprende una CDR, o una o más CDR (por ejemplo, 3 CDR VL y/o 3 CDR VH), región de cadena VL, o región de cadena VH de un anticuerpo seleccionado de los anticuerpos (por ejemplo, los anticuerpos Ab1-Ab21 y Ab24-Ab192) descritos en la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2011/119948 A1 o la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2011/119948. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria no es un anticuerpo Ab1 o Ab21, o un anticuerpo que comprende CDR (por ejemplo, una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR) del anticuerpo Ab1 o Ab21, descrito en la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2011/119948 A1. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria no es un anticuerpo 37M o 37C descrito en la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2012/103165. En cierta realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria no comprende un dominio VL que comprende la SEQ ID NO: 32 o un dominio VH que comprende la SEQ ID NO: 31.

En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 de KIT, por ejemplo, del KIT humano), no comprende una o más (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco o seis) CDR (por ejemplo, CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH) de un anticuerpo descrito en la publicación de solicitud de patente estadounidense nº US 2008/0287309; por ejemplo, el anticuerpo 36C1, 84H7, 63C10 o 65A12.

En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria no es una versión humana o humanizada de un anticuerpo producido por el hibridoma (BA7.3C.9) que tiene el número de entrada HB10716 en la Colección Estadounidense de Cultivos Tipo (ATCC), descrito, por ejemplo, en la patente estadounidense nº 5.919.911 o en la patente estadounidense nº 5.489.516. En otra realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria no comprende las CDR (por ejemplo, la CDR1 VL, la CDR2 VL, la CDR3 VL, la CDR1 VH, la CDR2 VH, y/o la CDR3 VH) del anticuerpo producido por el hibridoma (BA7.3C.9) que tiene el número de entrada HB10716 en la Colección Estadounidense de Cultivos Tipo (ATCC), descrito, por ejemplo, en la patente estadounidense nº 5.919.911 o en la patente estadounidense nº 5.489.516. En otra realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria no comprende las CDR del anticuerpo SR-1 descrito, por ejemplo, en la

patente estadounidense nº 5.919.911 o en la patente estadounidense nº 5.489.516 o la publicación de solicitud de patente estadounidense nº US 2007/0253951 A1 (véanse, por ejemplo, el ¶ [0032] o el ¶ [0023]). En una realización adicional, un anticuerpo descrito en la presente memoria no es un anticuerpo del anticuerpo producido por el hibridoma (BA7.3C.9) que tiene el número de entrada HB10716 en la Colección Estadounidense de Cultivos Tipo (ATCC), descrito, por ejemplo, en la patente estadounidense nº 5.919.911 o en la patente estadounidense nº 5.489.516.

En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria no son los anticuerpos humanizados del anticuerpo SR-1 descrito en la publicación de solicitud de patente estadounidense nº US 2007/0253951 A1. En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria no comprende una o más secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo constituido por: SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 10, referenciadas en la publicación de solicitud de patente estadounidense nº US 2007/0253951 A1. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria no comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 2 y 4 o de SEQ ID NOS: 2 y 6, referenciadas en la publicación de solicitud de patente estadounidense nº US 2007/0253951 A1. En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria no comprende una o más secuencias de aminoácidos que son al menos un 90% idénticas a la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo constituido por: SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 10, referenciadas en la publicación de solicitud de patente estadounidense nº US 2007/0253951 A1. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria no comprende una o más CDR descritas en la publicación de solicitud de patente estadounidense nº US 2007/0253951 A1; por ejemplo, los aminoácidos 44 a 58 de SEQ ID NO: 8 (CDR1 VL del anticuerpo SR-1; RASESVDIYGNSFMH), los aminoácidos 74 a 80 de SEQ ID NO: 8 (CDR2 VL del anticuerpo SR-1; LASNLES), los aminoácidos 111 a 121 de SEQ ID NO: 8 (CDR3 VL del anticuerpo SR-1; QQNNEDPYT), los aminoácidos 50 a 54 de SEQ ID NO: 10 (CDR1 VH del anticuerpo SR-1; SYNMH), los aminoácidos 69 a 85 de SEQ ID NO: 10 (CDR2 VH del anticuerpo SR-1; VIYSGNGDTSYNQKFKG), y/o los aminoácidos 118 a 125 de SEQ ID NO: 10 (CDR3 VH del anticuerpo SR-1; RDTRFGN), siendo las SEQ ID NOS: 8 y 10 las referenciadas en la publicación de solicitud de patente estadounidense nº US 2007/0253951 A1 (véase, por ejemplo, el ¶ [0032] o el ¶ [0023]). En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria no comprende una o más CDR descritas en la publicación de solicitud de patente estadounidense nº US 2007/0253951 A1; por ejemplo, los aminoácidos 43 a 58 de SEQ ID NO: 2 (CDR1 VL), los aminoácidos 74 a 80 de SEQ ID NO: 2 (CDR2 VL), los aminoácidos 113 a 121 de SEQ ID NO: 2 (CDR3 VL), los aminoácidos 50 a 54 de SEQ ID NO: 4 (CDR1 VH), los aminoácidos 69 a 85 de SEQ ID NO: 4 (CDR2 VH), y/o los aminoácidos 118 a 125 de SEQ ID NO: 4 (CDR3 VH), siendo las SEQ ID NOS: 2 y 4 las referenciadas en la publicación de solicitud de patente estadounidense nº US 2007/0253951 A1. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria no es un anticuerpo del anticuerpo SR-1 descrito en la publicación de solicitud de patente estadounidense nº US 2007/0253951 A1.

En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria no es un anticuerpo seleccionado del grupo constituido por: anticuerpo Anti-S100, ACK2, y ACK4 descritos en la patente estadounidense nº 6.989.248 o en la patente estadounidense nº 7.449.309. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria no es una versión humana o humanizada de un anticuerpo seleccionado de tal grupo. En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria no es un anticuerpo que comprenda una o más CDR (por ejemplo, 3 CDR VL y/o 3 CDR VH) de un anticuerpo seleccionado del grupo constituido por: anticuerpo Anti-S100, ACK2 y ACK4, descritos en la patente estadounidense nº 6.989.248 o en la patente estadounidense nº 7.449.309.

En ciertos aspectos, se pueden usar ensayos de unión de competición para contribuir a identificar un epítipo diana de un anticuerpo o a determinar si un anticuerpo está bloqueado de forma competitiva, por ejemplo, de manera dependiente de la dosis, por otro anticuerpo; por ejemplo, un anticuerpo que se una esencialmente al mismo epítipo, o a epítopos superpuestos, como anticuerpo de referencia, cuando los dos anticuerpos reconocen epítopos idénticos o estéricamente superpuestos en ensayos de unión de competición, tales como ensayos ELISA de competición, que pueden ser configurados en todo tipo de formatos diferentes, usando ya sea antígeno marcado o anticuerpo marcado. Se conocen numerosos tipos de ensayos de unión competitiva; por ejemplo: radioinmunoensayo (RIA) directo o indirecto en fase sólida, inmunoensayo enzimático (EIA) directo o indirecto en fase sólida, ensayo de competición sándwich (véase Stahl et al., (1983) *Methods in Enzymology* 9:242); EIA de biotina-avidina directo en fase sólida (véase Kirkland et al., (1986) *J. Immunol.* 137:3614); ensayo marcado directo en fase sólida, ensayo sándwich marcado directo en fase sólida (véase Harlow y Lane, (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press); RIA marcado directo en fase sólida usando marcador I-125 (véase Morel et al., (1988) *Mol. Immunol.* 25(1):7); EIA de biotina-avidina directo en fase sólida (Cheung et al., (1990) *Virology* 176:546); y RIA marcado directo (Moldenhauer et al., (1990) *Scand J. Immunol.* 32:77). Normalmente, tal ensayo implica el uso de un antígeno purificado (por ejemplo, KIT, tal como un dominio extracelular de KIT o una región D4 de KIT) unido a una superficie sólida o a células que porten cualquiera de estas dos: una inmunoglobulina de ensayo no marcada y una inmunoglobulina de referencia marcada. La inhibición competitiva puede medirse determinando la cantidad de marcador unida a la superficie sólida o a células en presencia de la inmunoglobulina de ensayo. Habitualmente, la inmunoglobulina de ensayo está presente en exceso. En ciertos aspectos, cuando un anticuerpo competitivo está presente en exceso, inhibirá la unión específica de un anticuerpo de referencia a un antígeno común en al menos un 50-55%, un 55-60%, un 60-65%, un 65-70% un 70-75% o más. En una versión común de este ensayo, el antígeno es inmovilizado en una placa de 96 pocillos. A continuación, se mide la

capacidad de los anticuerpos no marcados de bloquear la unión de anticuerpos marcados al antígeno usando marcadores radiactivos o enzimáticos. Para detalles adicionales, véanse, por ejemplo, Wagener et al., *J. Immunol.*, 1983, 130:2308-2315; Wagener et al., *J. Immunol. Methods*, 1984, 68:269-274; Kuroki et al., *Cancer Res.*, 1990, 50:4872-4879; Kuroki et al., *Immunol. Invest.*, 1992, 21:523-538; Kuroki et al., *Hybridoma*, 1992, 11:391-407, y *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Ed Harlow y David Lane, editores (Cold Springs Harbor Laboratory Press, Cold Springs Harbor, Nueva York, 1999), pp. 386-389.

En ciertos aspectos, un anticuerpo descrito en la presente memoria que se une inmuno-específicamente a una región D4 de un polipéptido KIT (por ejemplo, un polipéptido KIT humano) puede estar descrito por su región de cadena VL (por ejemplo, una cualquiera de las SEQ ID NOs: 7-10) o por su región de cadena VH (por ejemplo, una cualquiera de las SEQ ID NOs: 2-6), o por sus 3 CDR VL o sus 3 CDR VH. Véase, por ejemplo, Rader et al., 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 8910-8915, que describe la humanización del anticuerpo anti- $\alpha\text{v}\beta 3$ murino identificando una cadena ligera o una cadena pesada complementarias de una biblioteca de cadenas ligeras o cadenas pesadas humanas, respectivamente, dando como resultado variantes de anticuerpos humanizados que tienen afinidades tan altas o más que la afinidad del anticuerpo original. Véase también Clackson et al., 1991, *Nature*, 352:624-628, que describe métodos de producción de anticuerpos que se unen a un antígeno específico usando un dominio específico VL (o VH) y realizando una búsqueda de los dominios variables complementarios en una biblioteca. La búsqueda produjo 14 nuevos socios para un dominio VH específico y 13 nuevos socios para un dominio VL específico, que eran enlazadores potentes, según determinó ELISA.

Así, en ciertos aspectos, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a una región D4 de un polipéptido KIT (por ejemplo, un polipéptido KIT humano), que comprende un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 u 8. En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo, que se une inmuno-específicamente a una región D4 de un polipéptido KIT (por ejemplo, un polipéptido KIT humano), que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o 5.

En ciertos aspectos, las CDR de un anticuerpo descrito en la presente memoria se determinan según el método de Chothia y Lesk, 1987, *J. Mol. Biol.*, 196:901-917, al que se hará referencia en la presente memoria como las "CDR de Chothia" (véase también, por ejemplo, patente estadounidense nº 7,709,226). Usando el sistema de numeración de Kabat de numeración de residuos de aminoácido en la región de cadena VH y en la región de cadena VL, las CDR de Chothia dentro de la molécula de cadena pesada de un anticuerpo están normalmente presentes en las posiciones de aminoácidos 26 a 32 ("CDR1"), en las posiciones de aminoácidos 53 a 55 ("CDR2"), y en las posiciones de aminoácidos 96 a 101 ("CDR3"). Usando el sistema de numeración de Kabat de numeración de residuos de aminoácido en la región de cadena VH y en la región de cadena VL, las CDR de Chothia dentro de la molécula de cadena ligera de un anticuerpo están normalmente presentes en las posiciones de aminoácidos 26 a 33 (CDR1), en las posiciones de aminoácidos 50 a 52 (CDR2), y en las posiciones de aminoácidos 91 a 96 (CDR3).

En una realización específica, la posición de una CDR a lo largo de las regiones VH y/o VL de un anticuerpo descrito en la presente memoria puede variar en una, dos, tres o cuatro posiciones de aminoácidos siempre y cuando se mantenga (por ejemplo, se mantenga sustancialmente, por ejemplo, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 95%) la unión inmuno-específica a KIT (por ejemplo, la región D4 del KIT humano). Por ejemplo, en una realización, la posición que define una CDR de un anticuerpo descrito en la presente memoria puede cambiar corriendo los límites N-terminal y/o C-terminal de la CDR en uno, dos, tres o cuatro, aminoácidos, con respecto a la posición de la CDR representada en las Figuras 3A-3I, siempre y cuando se mantenga (por ejemplo, se mantenga sustancialmente, por ejemplo, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 95%) la unión inmuno-específica a KIT (por ejemplo, la región D4).

En aspectos específicos, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que comprende la cadena ligera y la cadena pesada de un anticuerpo; por ejemplo, una cadena ligera y una cadena pesada separadas. Con respecto a la cadena ligera, en una realización específica, la cadena ligera de un anticuerpo descrito en la presente memoria es una cadena ligera kappa. En otra realización específica, la cadena ligera de un anticuerpo descrito en la presente memoria es una cadena ligera lambda. En otra realización específica adicional, la cadena ligera de un anticuerpo descrito en la presente memoria es una cadena ligera kappa humana o una cadena ligera lambda humana. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, un polipéptido KIT que comprende una región D4 de KIT, por ejemplo KIT humano (por ejemplo, la SEQ ID NO: 15)) comprende una cadena ligera en la que la secuencia de aminoácidos de la región de cadena VL comprende cualquier secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria (por ejemplo, la SEQ ID NO: 7, 8, 9 o 10), y en la que la región constante de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de una región constante de cadena ligera kappa humana. En la técnica se han descrito ejemplos no limitantes de secuencias de regiones constantes de cadena ligera humana; véanse, por ejemplo, la patente estadounidense nº 5.693.780 y Kabat et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª edición, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242.

Con respecto a la cadena pesada, en una realización específica, la cadena pesada de un anticuerpo descrito en la presente memoria puede ser una cadena pesada alfa (α), delta (δ), épsilon (ϵ), gamma (γ) o mu (μ). En otra realización específica, la cadena pesada de un anticuerpo descrito puede comprender una cadena pesada alfa (α), delta (δ), épsilon (ϵ), gamma (γ) o mu (μ) humana. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, un polipéptido KIT que comprende una región D4 de KIT, por ejemplo KIT humano (por ejemplo, la SEQ ID NO: 15)), comprende una cadena pesada en la que la secuencia de aminoácidos de la región de cadena VH puede comprender cualquier secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria (por ejemplo, cualquiera de las SEQ ID NOs: 2-6), y en la que la región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de una región constante de la cadena pesada gamma (γ) humana. En la técnica se han descrito ejemplos no limitantes de secuencias de regiones constantes de cadena pesada humana; véanse, por ejemplo, la patente estadounidense nº 5.693.780 y Kabat et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª edición, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242.

En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, una región D4 de KIT, por ejemplo KIT humano) comprende una región de cadena VL y una región de cadena VH que comprenden cualquier secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria, y en el que las regiones constantes comprenden las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de una molécula de inmunoglobulina IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY, o de una molécula de inmunoglobulina IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY humana. En otra realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, una región D4 de KIT, por ejemplo KIT humano) comprende una región de cadena VL y una región de cadena VH que comprenden cualquier secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria, y en el que las regiones constantes comprenden las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de una molécula de inmunoglobulina IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY, cualquier clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2), o cualquier subclase (por ejemplo, IgG2a e IgG2b) de molécula de inmunoglobulina. En una realización particular, las regiones constantes comprenden las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de una molécula de inmunoglobulina IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY humana, cualquier clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2), o cualquier subclase (por ejemplo, IgG2a e IgG2b) de molécula de inmunoglobulina.

En otra realización específica adicional, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, una región D4 de KIT, por ejemplo KIT humano), comprende una región de cadena VL y una región de cadena VH que comprenden cualquier secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria (por ejemplo, una cualquiera de las SEQ ID NOs: 2-6 y/o una cualquiera de las SEQ ID NOs: 7-10), y en el que las regiones constantes comprenden las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de una IgG1 humana o una IgG4 humana. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, una región D4 de KIT, por ejemplo KIT humano) comprende una región de cadena VL y una región de cadena VH que comprenden cualquier secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria, y en el que las regiones constantes comprenden las secuencias de aminoácidos de la región constante de una IgG1 humana.

En realizaciones específicas, un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT, por ejemplo, un polipéptido KIT humano, por ejemplo, una región D4 de KIT (por ejemplo, del KIT humano, por ejemplo la SEQ ID NO: 15), comprende regiones marco (por ejemplo, regiones marco del dominio VL y/o del dominio VH) que son regiones marco humanas o derivadas de regiones marco humanas. En la técnica se describen ejemplos no limitantes de human regiones marco; véase, por ejemplo, Kabat et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª edición, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242. En cierta realización, un anticuerpo descrito en la presente memoria comprende regiones marco (por ejemplo, regiones marco del dominio VL y/o del dominio VH) que son regiones marco de primate (por ejemplo, un primate no humano) o derivadas de regiones marco de primate (por ejemplo, un primate no humano).

En ciertos ejemplos, un anticuerpo descrito en la presente memoria comprende regiones marco (por ejemplo, regiones marco del dominio VL y/o del dominio VH) que no son regiones marco de primate (por ejemplo, un primate no humano; por ejemplo, un simio, tal como un simio del Viejo Mundo) o derivadas de regiones marco de primate (por ejemplo, un primate no humano).

En ciertos ejemplos, con respecto a cualquiera de estos anticuerpos descritos en la presente memoria, la región de cadena VL no comprende regiones marco de primate no humano (por ejemplo, un simio, tal como un simio del Viejo Mundo) ni está derivada de regiones marco de un primate no humano (por ejemplo, un simio, tal como un simio del Viejo Mundo). En ciertas otras realizaciones, la región de cadena VH no comprende regiones marco de primate no humano (por ejemplo, un simio, tal como un simio del Viejo Mundo) ni está derivada de regiones marco de primate no humano (por ejemplo, un simio, tal como un simio del Viejo Mundo).

Ejemplos no limitantes de regiones marco de primate no humano incluyen los de simios del Viejo Mundo; por ejemplo, *Pan troglodytes*, *Pan paniscus* o *Gorilla gorilla*; chimpancé *Pan troglodytes*; monos del Viejo Mundo, tales como monos del Viejo Mundo del género *Macaca*; y el mono cangrejero *Macaca cynomolgus*. En la publicación de

solicitud de patente estadounidense nº US 2005/0208625 se describen ejemplos no limitantes de secuencias marco de primate no humano.

En ciertos aspectos, en la presente memoria también se proporcionan anticuerpos, que se unen inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, una región D4 de KIT, por ejemplo KIT humano), que comprenden una o más sustituciones de residuos de aminoácido, por ejemplo, en la región de cadena VL o en la región de cadena VH; por ejemplo, las CDR o las FR. En realizaciones específicas, ninguna de las sustituciones de residuos de aminoácido está situada dentro de las CDR. En realizaciones específicas, todas las sustituciones de aminoácidos están en las FR (véanse, por ejemplo, las Tablas 5A-6B). En cierta realización, una sustitución de aminoácidos es una sustitución de aminoácidos conservadora.

Según se usa en la presente memoria, una “sustitución de aminoácidos conservadora” es aquella en la que el residuo de aminoácido es sustituido con un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral con una carga similar. En la técnica se han definido familias de residuos de aminoácido que tienen cadenas laterales con cargas similares. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares sin carga (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales beta ramificadas (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina).

En realizaciones particulares, se modifica la glucosilación de anticuerpos descritos en la presente memoria. Por ejemplo, puede crearse un anticuerpo aglucosilado (es decir, un anticuerpo que carece de glucosilación) o puede crearse un anticuerpo que comprenda una mutación o sustitución en uno o más sitios de glucosilación para eliminar la glucosilación en los uno o más sitios de glucosilación. La glucosilación puede ser alterada, por ejemplo, para aumentar la afinidad del anticuerpo hacia un antígeno diana (por ejemplo, del KIT humano; por ejemplo, una región D4 del KIT humano). Tales modificaciones de hidratos de carbono pueden lograrse, por ejemplo, alterando uno o más sitios de glucosilación dentro de la secuencia del anticuerpo. Por ejemplo, pueden realizarse una o más sustituciones de aminoácidos que den lugar a la eliminación de uno o más sitios de glucosilación de regiones variables (por ejemplo, las CDR VL y/o VH o las FR VL y/o VH) para eliminar con ella la glucosilación en ese sitio. Tal aglucosilación puede aumentar la afinidad del anticuerpo hacia el antígeno (por ejemplo, del KIT humano; por ejemplo, una región D4 del KIT humano). Tal planteamiento es descrito con detalle adicional en las patentes estadounidenses n^{os} 5.714.350 y 6.350.861.

La glucosilación puede ocurrir mediante glucosilación de enlace N (o enlace de asparagina) o glucosilación de enlace O. La glucosilación de enlace N implica la modificación de hidratos de carbono en el grupo NH₂ de la cadena lateral de un aminoácido asparagina en un polipéptido. La glucosilación de enlace O implica la modificación de hidratos de carbono en el grupo hidroxilo de la cadena lateral de un aminoácido serina, treonina, o hidroxilisina.

En realizaciones específicas, un residuo de asparagina (N) dentro de una región VH (por ejemplo, SEQ ID NO: 2, 3, 4, 5 o 6) o VL (por ejemplo, SEQ ID NO: 7, 8, 9 o 10) de un anticuerpo descrito en la presente memoria es sustituido con una serina (S) u otro aminoácido (por ejemplo, alanina, glicina, glutamina, treonina, tirosina, cisteína). En otras realizaciones específicas, un residuo de asparagina (N) dentro de una CDR VH (por ejemplo, CDR1 VH, CDR2 VH y/o CDR3 VH que comprendan las secuencias de SEQ ID NOs: 16-18, respectivamente) y/o una CDR VL (por ejemplo, CDR1 VL, CDR2 VL, y/o CDR3 VL que comprendan las secuencias de SEQ ID NOs: 19-21, respectivamente) de un anticuerpo descrito en la presente memoria es sustituido con una serina (S) u otro aminoácido (por ejemplo, alanina, glicina, glutamina, treonina, tirosina, cisteína). En otras realizaciones específicas, un residuo de asparagina (N) dentro de una FR VH (por ejemplo, FR1 VH, FR2 VH, FR3 VH y/o FR4 VH, definidas en las Tablas 5A, 5C y 6B) y/o una FR VL (por ejemplo, FR1 VL, FR2 VL, FR3 VL, y/o FR4 VL, definidas en las Tablas 5B, 5D y 6A) de un anticuerpo descrito en la presente memoria es sustituido con una serina (S) u otro aminoácido (por ejemplo, alanina, glicina, glutamina, treonina, tirosina, cisteína).

En ciertas realizaciones, pueden producirse anticuerpos aglucosilados en células bacterianas que carecen de la necesaria maquinaria de glucosilación. En la técnica se han descrito células con maquinaria de glucosilación alterada y pueden ser usadas como células anfitrionas en las que expresar anticuerpos recombinantes descritos en la presente memoria para producir con ello un anticuerpo con glucosilación alterada. Véanse, por ejemplo, Shields, R.L. et al. (2002) *J. Biol. Chem.* 277:26733-26740; Umana et al. (1999) *Nat. Biotech.* 17:176-1, así como la patente europea nº EP 1.176.195; y las publicaciones PCT WO 03/035835; WO 99/54342.

En ciertas realizaciones, pueden hacerse una o más modificaciones a la región Fc de un anticuerpo aquí descrito, generalmente, para alterar una o más propiedades funcionales del anticuerpo, tales como la vida media sérica, fijación del complemento, unión al receptor Fc, y/o citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo. Estas modificaciones se describen, por ejemplo, en la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2008/153926 A2.

En realizaciones específicas, un residuo de asparagina (N) dentro de la región constante de una cadena pesada y/o de la región constante de un región ligera de un anticuerpo descrito en la presente memoria es sustituido con una serina (S) u otro aminoácido (por ejemplo, alanina, glicina, glutamina, treonina, tirosina, cisteína).

- 5 En realizaciones específicas, un residuo de asparagina (N) dentro de una cadena pesada y/o de una región ligera de un anticuerpo descrito en la presente memoria es sustituido con una serina (S) u otro aminoácido (por ejemplo, alanina, glicina, glutamina, treonina, tirosina, cisteína).

En la presente memoria se proporcionan anticuerpos que se unen inmuno-específicamente a antígeno de KIT y que pueden modular la actividad del KIT. En ciertas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en la presente memoria se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT —por ejemplo, un polipéptido KIT humano— e inhibe una actividad del KIT. La actividad del KIT puede estar relacionada con cualquier actividad del KIT conocida o descrita en la técnica; por ejemplo, la dimerización del receptor KIT, la fosforilación del receptor KIT (fosforilación de la tirosina), la señalización aguas abajo del receptor KIT (por ejemplo, señalización AKT, MAPK/ERK, Ras, Stat1, Stat3 o Stat5), regulación transcripcional inducida por ligandos KIT (por ejemplo, SCF) (por ejemplo, la activación transcripcional de c-Myc inducida por SCF), la inducción o potenciación de la proliferación celular, o la supervivencia celular. Actividad del KIT o de la función del KIT son usadas de forma intercambiable en la presente memoria. En ciertos aspectos, la actividad del KIT es inducida por un ligando KIT (por ejemplo, SCF) que se une al receptor KIT. En aspectos particulares, la actividad del KIT puede ser inducida o potenciada por mutaciones con ganancia de función que pueden dar lugar, por ejemplo, a la dimerización y, consecutivamente, a la señalización activa de KIT (véanse, por ejemplo, Mol et al., *J. Biol. Chem.*, 2003, 278:31461-31464; Hirota et al., *J. Pathology*, 2001, 193:505-510). Tal ganancia de función puede permitir que la dimerización del receptor KIT y la señalización de KIT ocurran en ausencia de un ligando KIT (por ejemplo, SCF) que se una al receptor KIT. En ciertas realizaciones, puede ocurrir un aumento en la actividad o la señalización del KIT, en ausencia de un ligando KIT (por ejemplo, SCF) que se una al receptor KIT, debido a la alta expresión (o sobreexpresión) de los receptores KIT. La alta expresión o sobreexpresión de KIT en una célula se refiere a un nivel de expresión que es al menos aproximadamente 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% más que el nivel de expresión de una célula de referencia que se sabe que tiene una expresión del KIT o una actividad del KIT normales o a un nivel de expresión del KIT por encima de la media en una población de células o muestras que se sabe que tienen una expresión del KIT o una actividad del KIT normales. Los niveles de expresión del KIT pueden ser evaluados por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, inmunoelectrotransferencia o inmunohistoquímica). En realizaciones particulares, una actividad del KIT que es mayor que la actividad normal del KIT puede llevar a transformación celular, neoplasia y tumorigénesis. En realizaciones particulares, una actividad del KIT que es mayor que la actividad normal del KIT puede llevar a otros trastornos o enfermedades asociados con el KIT.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria no bloquea o inhibe la unión de un ligando KIT (por ejemplo, SCF) al receptor KIT. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria inhibe o reduce la unión de un ligando KIT (por ejemplo, SCF) al receptor KIT solo de forma insignificante (por ejemplo, menos de aproximadamente el 2% o el 3%). En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria no induce o potencia la disociación de un ligando KIT (por ejemplo, SCF) del receptor KIT. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria induce o potencia la disociación de un ligando KIT (por ejemplo, SCF) del receptor KIT solo de forma insignificante (por ejemplo, menos de aproximadamente el 2% o el 3%).

En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria no bloquea o inhibe la dimerización del receptor KIT. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria inhibe o reduce la dimerización del receptor KIT solo de forma insignificante (por ejemplo, menos de aproximadamente el 2% o el 3% o dentro de un error o desviación típico). En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria no induce o potencia la disociación dimérica del receptor KIT. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria induce o potencia la disociación dimérica del receptor KIT solo de forma insignificante (por ejemplo, menos de aproximadamente el 2% o el 3% o dentro de un error o desviación típico). En una realización particular, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria puede unirse específicamente a un dímero receptor KIT y no bloquear o inhibir la dimerización del receptor KIT. En una realización particular, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria puede unirse específicamente a un monómero receptor KIT y no bloquear o inhibir la dimerización del receptor KIT.

En ciertos aspectos, como inhibidor de la actividad del KIT, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede bloquear o inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la dimerización del KIT. Generalmente, se induce la dimerización del receptor KIT cuando un ligando de KIT se une a KIT. Así, en realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente a KIT y bloquean o inhiben (por ejemplo, inhiben parcialmente) la dimerización de receptores KIT en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluado por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica —por ejemplo, el ensayo de inmunoprecipitación— con respecto a la dimerización de receptores KIT en presencia de estimulación de ligandos de KIT sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se une inmuno-específicamente a KIT). En una realización específica, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen

específicamente a KIT e inhiben parcialmente la dimerización de los receptores KIT en aproximadamente entre un 25% y un 75%. El bloqueo o inhibición (por ejemplo, la inhibición parcial) de la dimerización de receptores KIT por anticuerpos descritos en la presente memoria puede ser evaluado en presencia de estimulación de ligandos de KIT. Por ejemplo, células que expresan KIT son puestas en contacto con un ligando de KIT en presencia o ausencia de anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria, y se determina el nivel de la dimerización del receptor KIT. En ciertas realizaciones, la dimerización inducida por un ligando KIT del receptor KIT en ausencia de anticuerpo anti KIT es al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces mayor que la dimerización del receptor KIT en presencia de anticuerpo anti KIT evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, ensayos de inmunoprecipitación). La fosforilación de la tirosina de uno o más residuos en el dominio citoplasmático de KIT puede ser un indicador de la dimerización del receptor KIT. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en al menos aproximadamente 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria y/o conocidos para un experto en la técnica, con respecto a la actividad del KIT en presencia de estimulación de ligandos de KIT sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en al menos aproximadamente 25% a aproximadamente 65% evaluada por métodos descritos en la presente memoria y/o conocidos para un experto en la técnica, con respecto a la actividad del KIT en presencia de estimulación de ligandos de KIT sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). Ejemplos no limitantes de la actividad del KIT pueden incluir la fosforilación del receptor KIT, la señalización del receptor KIT, la proliferación celular arbitrada por ligandos de KIT (por ejemplo, SCF), la supervivencia celular arbitrada por ligandos de KIT (por ejemplo, SCF) y la activación transcripcional de un gen diana KIT (por ejemplo, c-Myc).

Como inhibidor de la actividad del KIT, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo) puede bloquear (por ejemplo, bloquear parcialmente) o inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la fosforilación del KIT, específicamente la fosforilación de la tirosina de uno o más residuos en el dominio citoplasmático de KIT. Generalmente, se induce la dimerización y la fosforilación del receptor KIT cuando un ligando de KIT se une a KIT. Sin embargo, en ciertos aspectos, la dimerización y/o la fosforilación del receptor KIT pueden ocurrir independientemente de la unión de ligandos de KIT al receptor KIT. Por ejemplo la dimerización y/o la fosforilación del receptor KIT pueden ocurrir debido a mutaciones con ganancia de función o sobreexpresión de KIT.

Ejemplos no limitantes de residuos de tirosina en el dominio citoplasmático de KIT murino que pueden ser fosforilados, por ejemplo, tras la estimulación de ligandos, incluyen 544, 546, 552, 567, 569, 577, 608, 645, 671, 674, 702, 719, 728, 745, 772, 821, 844, 853, 868, 878, 898 y 934 (véase Ueda et al., *Blood*, 2002, 99:3342-3349). Se pueden determinar fácilmente los correspondientes residuos de tirosina en el dominio citoplasmático del KIT humano. Ejemplos no limitantes de residuos de tirosina en el dominio citoplasmático del KIT humano (por ejemplo, el nº de entrada en GenBank P10721) que pueden ser fosforilados —por ejemplo, tras la estimulación de ligandos— incluyen los residuos 568, 570, 703, 721, 730, 747, 823, 900 y 936. En una realización específica, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria puede inhibir la fosforilación del receptor en el residuo de tirosina 719 de KIT murino. En otra realización específica, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria puede inhibir la fosforilación del receptor en el residuo de tirosina 703 o 721 del KIT humano.

Así, en realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, o un conjugado de los mismos) se unen específicamente a KIT y bloquean o inhiben la fosforilación de la tirosina en el dominio citoplasmático de KIT en al menos aproximadamente 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica, por ejemplo, el ensayo ELISA, descrito en la sección 6, o el ensayo de inmunotransferencia, con respecto a la fosforilación en presencia de estimulación de ligandos de KIT sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En realizaciones particulares, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente a KIT y bloquean o inhiben la fosforilación de la tirosina en el dominio citoplasmático de KIT en al menos aproximadamente 25%, opcionalmente a aproximadamente 65% o 75%, evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica, por ejemplo, el ensayo ELISA, descrito en la sección 6, o el ensayo de inmunotransferencia. En ciertas realizaciones, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente a KIT y bloquean o inhiben la fosforilación de la tirosina del dominio citoplasmático de KIT en al menos aproximadamente 25% a aproximadamente 80% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica, por ejemplo, el ensayo ELISA, descrito en la sección 6, o el ensayo de inmunotransferencia. En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente a KIT y bloquean o inhiben la fosforilación de la tirosina del dominio citoplasmático de KIT con una CI_{50} inferior a aproximadamente 600 pM, o inferior a aproximadamente 550 pM, o inferior a aproximadamente 500 pM, o inferior a aproximadamente 400 pM o inferior a aproximadamente 300 pM evaluada por métodos descritos en la presente memoria (por ejemplo, el ensayo de inhibición de la fosforilación con células CHO que expresan un KIT

de la forma natural, según se describe posteriormente en la Sección 6) o conocidos para un experto en la técnica. En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente a KIT y bloquean o inhiben la fosforilación de la tirosina del dominio citoplasmático de KIT con una CI_{50} inferior a aproximadamente 600 pM. En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente a KIT y bloquean o inhiben la fosforilación de la tirosina del dominio citoplasmático de KIT con una CI_{50} inferior a aproximadamente 550 pM. En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente a KIT y bloquean o inhiben la fosforilación de la tirosina del dominio citoplasmático de KIT con una CI_{50} en el intervalo de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 500 pM, de aproximadamente 25 pM a aproximadamente 550 pM, o de aproximadamente 40 pM a aproximadamente 600 pM, o de aproximadamente 50 pM a aproximadamente 350 pM. Por ejemplo, puede determinarse la CI_{50} para la inhibición de la fosforilación de la tirosina sometiendo a ensayo a lisados de células, por ejemplo, células CHO, que expresen el KIT de forma recombinante, en ELISA que detecte la fosforilación de la tirosina, según se describe, por ejemplo, en la Sección 6 más abajo. En ciertas realizaciones, se clasifican las células —por ejemplo, células CHO— que expresan el KIT de forma recombinante; clasifican, por ejemplo, para seleccionar las células que expresen el KIT con gran intensidad, antes de su uso en los ensayos de inhibición de la fosforilación. En algunas realizaciones, las células no son clasificadas antes de su uso en los ensayos de inhibición de la fosforilación.

En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, o un conjugado de los mismos) se unen específicamente al KIT y reducen la fosforilación de la tirosina del dominio citoplasmático de KIT en al menos aproximadamente 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica —por ejemplo, el ensayo ELISA, descrito en la sección 6, o el ensayo de inmunotransferencia— con respecto a la fosforilación en presencia de estimulación de ligandos de KIT sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, o un conjugado de los mismos) se unen específicamente al KIT y reducen la fosforilación de la tirosina del dominio citoplasmático de KIT en al menos aproximadamente un 25% o un 35%, opcionalmente a aproximadamente 75% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica —por ejemplo, el ensayo ELISA, descrito en la sección 6, o el ensayo de inmunotransferencia— con respecto a la fosforilación en presencia de estimulación de ligandos de KIT sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT).

En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente a KIT y bloquean o inhiben la fosforilación de uno o más residuos de tirosina en el dominio citoplasmático de KIT en al menos aproximadamente 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica —por ejemplo, el ensayo de inmunotransferencia— con respecto a la fosforilación en presencia de estimulación de ligandos de KIT sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En realizaciones específicas, el bloqueo o inhibición (por ejemplo, la inhibición parcial) de la fosforilación de uno o más residuos de tirosina del dominio citoplasmático del KIT por anticuerpos descritos en la presente memoria puede ser evaluado tras la estimulación de ligandos de KIT. Por ejemplo, células que expresan KIT son puestas en contacto con un ligando de KIT en presencia o ausencia de anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria, y puede determinarse el nivel de la fosforilación de uno o más residuos de tirosina en el dominio citoplasmático de KIT. En ciertas realizaciones, en la fosforilación inducida por ligandos de KIT de uno o más residuos de tirosina del dominio citoplasmático del KIT la ausencia de anticuerpo anti KIT es al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces mayor que la fosforilación inducida por ligandos de KIT de uno o más residuos de tirosina del dominio citoplasmático del KIT en presencia de anticuerpo anti KIT, evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, ensayos de inmunotransferencia), con respecto a la fosforilación en presencia de estimulación de ligandos de KIT sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT).

En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, o un conjugado de los mismos) se unen específicamente al KIT e inducen o potencian la internalización del receptor KIT en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica, con respecto a la internalización en presencia de un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, o un conjugado de los mismos) se unen específicamente al KIT e inducen o potencian la internalización del receptor KIT en al menos aproximadamente un 25% o un 35%, opcionalmente a aproximadamente un 75%, evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica, con respecto a la internalización en presencia de un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En

realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT e inducen o potencian la internalización del receptor KIT en al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica, con respecto a la internalización en presencia de un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En la técnica son bien conocidas técnicas para la cuantificación o la visualización de los receptores de la superficie celular, e incluyen diversas técnicas fluorescente y radiactivas. Por ejemplo, un método implica la incubación de las células con un anticuerpo antirreceptor radiomarcado. Alternativamente, el ligando natural del receptor puede ser conjugado con una molécula fluorescente o un marcador radiactivo e incubado con las células. En la técnica son bien conocidos ensayos adicionales de internalización de los receptores, y están descritos, por ejemplo, en Jiménez et al., *Biochemical Pharmacology*, 1999, 57:1125-1131; Bernhagen et al., *Nature Medicine*, 2007, 13:587-596; y Conway et al., *J. Cell Physiol.*, 2001, 189:341-55.

En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT e inducen o potencian la renovación del receptor KIT en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo de radiomarcado por pulso radiactivo y seguimiento), con respecto a la renovación en presencia de un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, o un conjugado de los mismos) se unen específicamente al KIT e inducen o potencian la renovación del receptor KIT en al menos aproximadamente un 25% o un 35%, opcionalmente a aproximadamente un 75%, evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo de radiomarcado por pulso radiactivo y seguimiento), con respecto a la renovación en presencia de un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT e inducen o potencian la renovación del receptor KIT en al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo de radiomarcado por pulso radiactivo y seguimiento), con respecto a la renovación en presencia de un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En la técnica son bien conocidos métodos para la determinación de la renovación de receptores. Por ejemplo, las células que expresan KIT pueden ser marcadas por pulso radiactivo usando la mezcla de marcado proteínico ³⁵S-EXPRESS (NEG772, NEN Life Science Products), lavadas y ser objeto de seguimiento con un medio no marcado durante un periodo de tiempo antes de que se inmunoprecipiten los lisados proteínicos de las células marcadas usando un anticuerpo anti KIT y resueltas mediante SDS-PAGE y visualizadas (por ejemplo, expuestas a una pantalla PhosphorImager (Molecular Dynamics), escaneadas usando el escáner Typhoon8600 (Amersham), y analizadas usando el soporte lógico ImageQuant (Molecular Dynamics)) (véase, por ejemplo, Chan et al., *Development*, 2004, 131:5551-5560).

En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT e inducen o potencian la degradación del receptor KIT en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, ensayos de radiomarcado por pulso radiactivo y seguimiento), con respecto a la degradación en presencia de un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT e inducen o potencian la degradación del receptor KIT en al menos aproximadamente un 25% o un 35%, opcionalmente a aproximadamente un 75%, evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, ensayos de radiomarcado por pulso radiactivo y seguimiento), con respecto a la degradación en presencia de un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT e inducen o potencian la degradación del receptor KIT en al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, ensayos de radiomarcado por pulso radiactivo y seguimiento), con respecto a la degradación en presencia de un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En la técnica son bien conocidas técnicas para la cuantificación o la monitorización de la ubiquitinación y/o la degradación (por ejemplo, la cinética o la tasa de degradación) de los receptores de la superficie celular e implican diversas técnicas fluorescentes y radiactivas (véase, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2008/153926 A2). Por ejemplo, se pueden llevar a cabo experimentos de radiomarcado por pulso radiactivo y seguimiento o experimentos usando ligandos radiomarcados tales como ¹²⁵I-SCF para medir cuantitativamente la degradación del KIT.

Además, la señalización de eventos aguas abajo de la fosforilación del receptor KIT puede servir de indicadora de la actividad del KIT. Por ejemplo, que un ligando de KIT (por ejemplo, SCF) se una a su receptor KIT estimula varios sistemas de señalización diferenciados, incluyendo, por ejemplo, miembros de las quinasas de la familia Src, 3-quinasas de fosfatidilinositol (PI) y la proteína quinasa activada por mitógenos Ras (MAPK) (véase Munugalavadda et al., *Mol. Cell. Biol.*, 2005, 25:6747-6759). Las tirosinas fosforiladas en el dominio citoplasmático de KIT pueden proporcionar sitios para proteínas que contengan el dominio SH2, que incluyen, sin limitación, proteínas del sistema de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) p21Ras, la subunidad p85 de la 3-quinasa de PI, la fosfolipasa C-gamma₁, la proteína adaptadora Grb2, las quinasas de la familia Src (SFK), Cbl, CRKL, p62Dok-1, SHP1 y SHP2 (véase Ueda et al., *Blood*, 2002, 99:3342-3349).

Así, en ciertos aspectos, anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria que actúan como inhibidores de la actividad del KIT pueden inhibir la señalización de un miembro de las quinasas de la familia Src, de las 3 quinasas de PI, o de la Ras-MAPK. En realizaciones particulares, anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria que actúan como inhibidores de la actividad del KIT pueden inhibir la unión (o inhibir la interacción) con el dominio citoplasmático del KIT, de una o más proteínas que contengan el dominio SH2, tales como proteínas del sistema p21Ras-MAPK, la subunidad p85 de la 3-quinasa de PI, la fosfolipasa C-gamma₁, la proteína adaptadora Grb2, un miembro de SFK, Cbl, CRKL, p62Dok-1, SHP1 y SHP2. En ciertas realizaciones, anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria que actúan como inhibidores de la actividad del KIT pueden inhibir la activación por el KIT de una o más proteínas que contengan el dominio SH2, tales como proteínas del sistema p21Ras-MAPK, la subunidad p85 de la 3-quinasa de PI, la fosfolipasa C-gamma₁, la proteína adaptadora Grb2, un miembro de SFK, Cbl, CRKL, p62Dok-1, SHP1 y SHP2.

En realizaciones particulares, anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria que actúan como inhibidores de la actividad del KIT pueden inhibir la señalización aguas abajo, tal como la fosforilación de MAPK, la fosforilación de AKT, o la fosforilación de Stat1, Stat3, o Stat5. Así, en ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria puede inhibir o reducir la fosforilación de MAPK (por ejemplo, la fosforilación de MAPK inducida por ligandos de KIT (por ejemplo, SCF)) en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica, por ejemplo, inmunoelectrotransferencia o ensayo ELISA, según se describe en la Sección 6, o el ensayo de inmunotransferencia, con respecto a la fosforilación en presencia de estimulación de ligandos de KIT sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria puede inhibir o reducir la fosforilación de AKT (por ejemplo, la fosforilación de AKT inducida por ligandos de KIT (por ejemplo, SCF)) en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica, por ejemplo, inmunoelectrotransferencia o ensayo ELISA, según se describe en la Sección 6, o el ensayo de inmunotransferencia, con respecto a la fosforilación en presencia de estimulación de ligandos de KIT sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En realizaciones particulares, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria puede inhibir o reducir la fosforilación de Stat3 (por ejemplo, la fosforilación de Stat3 inducida por ligandos de KIT (por ejemplo, SCF)) en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica, por ejemplo, inmunoelectrotransferencia o ensayo ELISA, según se describe en la Sección 6, o el ensayo de inmunotransferencia, con respecto a la fosforilación en presencia de estimulación de ligandos de KIT sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT). En realizaciones particulares, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria puede inhibir o reducir la fosforilación de Stat1 o Stat5 (por ejemplo, la fosforilación inducida por ligandos de KIT (por ejemplo, SCF)) en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica, por ejemplo, inmunoelectrotransferencia o ensayo ELISA, según se describe en la Sección 6, o el ensayo de inmunotransferencia, con respecto a la fosforilación en presencia de estimulación de ligandos de KIT sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se una inmunoespecíficamente a KIT).

En ciertos aspectos, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria que puede actuar como inhibidor de la actividad del KIT puede inhibir la proliferación celular de las células (por ejemplo, células cancerosas tales como células TF-1) que expresan KIT y que responden a la señalización KIT (por ejemplo, células que proliferan en respuesta a la estimulación de ligandos de KIT y a la señalización de KIT). Los ensayos de proliferación celular son descritos en la técnica y pueden ser llevados a cabo fácilmente por un experto en la técnica. Por ejemplo, la proliferación celular puede ser evaluada midiendo la incorporación de la bromodesoxiuridina (BrdU) (véanse, por ejemplo, Hoshino et al., 1986, *Int. J. Cancer* 38, 369; Campana et al., 1988, *J. Immunol. Meth.* 107:79) o la incorporación de (3H) timidina (véanse, por ejemplo, Blechman et al., *Cell*, 1995, 80:103-113; Chen, J., 1996, *Oncogene* 13:1395-403; Jeoung, J., 1995, *J. Biol. Chem.* 270:18367-73), por recuento celular directo a intervalos temporales diversos (por ejemplo, intervalos de 12 horas o de 24 horas), o detectando cambios en la transcripción, la traducción o la actividad celular de genes conocidos, tales como protooncogenes (por ejemplo, fos, myc) o marcadores del ciclo celular (Rb, cdc2, ciclina A, D1, D2, D3, E, etc.). Los niveles de tal proteína y ARNm y de tal

actividad pueden determinarse mediante cualquier método bien conocido en la técnica. Por ejemplo, proteína puede ser cuantificada mediante métodos inmunodiagnósticos conocidos, tales como ELISA, inmunoelectrotransferencia o inmunoprecipitación usando anticuerpos, incluyendo anticuerpos disponibles comercialmente. El ARNm puede ser cuantificado usando métodos que son bien conocidos y rutinarios en la técnica; por ejemplo, usando análisis de tipo Northern, protección de la RNasa, o reacción en cadena de la polimerasa en conexión con la transcripción inversa.

En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT e inhiben la proliferación celular en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo de incorporación de la BrdU). En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT e inhiben la proliferación celular en al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo de incorporación de la BrdU).

En ciertos aspectos, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria, que puede actuar como inhibidor de la actividad del KIT, puede reducir o inhibir la supervivencia de células que expresan KIT y que responden a la señalización KIT (por ejemplo, células que proliferan en respuesta a la estimulación de ligandos de KIT y a la señalización de KIT). En la técnica se describen ensayos de supervivencia celular y pueden ser llevados a cabo fácilmente por un experto en la técnica. Por ejemplo, la viabilidad celular puede ser evaluada usando tinción de azul de tripano u otros marcadores de muerte o viabilidad celular conocidos en la técnica. En una realización específica, se mide el nivel de ATP celular para determinar la viabilidad celular. En realizaciones específicas, la viabilidad celular es medida en periodos de tres días y de siete días usando un ensayo estándar en la técnica, tal como el CellTiter-Glo Assay Kit (Promega), que mide los niveles de ATP intracelular. Una reducción en el ATP celular es indicativa de un efecto citotóxico. En otra realización específica, la viabilidad celular puede ser medida en el ensayo de absorción de rojo neutro. En otras realizaciones, la observación visual en busca de cambios morfológicos puede incluir agrandamiento, granularidad, células con bordes irregulares, aspecto lechoso, esfericidad, desprendimiento de la superficie del pocillo u otros cambios. Estos cambios reciben la designación de T (100% tóxico), PVH (parcialmente tóxico-muy pesado-80%), PH (parcialmente tóxico-pesado-60%), P (parcialmente tóxico-40%), Ps (parcialmente tóxico-ligero-20%), o 0 (sin toxicidad-0%), conforme al grado de citotoxicidad visto. Se determina una concentración inhibitoria (citotóxica) de células del 50% (CI₅₀) mediante análisis de regresión de estos datos.

En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT e inhiben (por ejemplo, inhiben parcialmente) la supervivencia celular (por ejemplo, de células cancerosas) en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo de exclusión de azul de tripano). En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT e inhiben la supervivencia celular (por ejemplo, de células cancerosas) en al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo con azul de tripano).

En ciertos aspectos, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria, que puede actuar como inhibidor de la actividad del KIT, es capaz de inducir la apoptosis (es decir, la muerte celular programada) de células (por ejemplo, células cancerosas, tales como células MO7E) que expresan KIT y que responden a la señalización KIT (por ejemplo, células que proliferan en respuesta a la estimulación de ligandos de KIT y a la señalización de KIT). La apoptosis es descrita en la técnica y puede ser llevada a cabo fácilmente por un experto en la técnica. Por ejemplo, puede usarse citometría de flujo para detectar la caspasa 3 activada, una enzima que media en la apoptosis, en células sometidas a apoptosis, o puede usarse inmunoelectrotransferencia para detectar la escisión de la poli(ADP-ribosa) polimerasa (PARP) (véase, por ejemplo, Smolich et al., *Blood*, 2001, 97:1413-1421). La escisión de PARP es un indicador de la apoptosis. En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT e inducen o potencian apoptosis en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, citometría de flujo para detectar la caspasa 3 activada). En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT e inducen o potencian apoptosis en al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, citometría de flujo para detectar la caspasa 3 activada).

En ciertos aspectos, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria, que puede actuar como inhibidor de la actividad del KIT, es capaz de inhibir o disminuir el desarrollo celular independiente del anclaje (por ejemplo, la formación de colonias) por parte de células (por ejemplo, células H526 o células CHO que expresen KIT exógeno) que expresan KIT y que responden a la señalización KIT (por ejemplo, células que proliferan en respuesta a la estimulación de ligandos de KIT y a la señalización de KIT), medido por métodos comúnmente conocidos en la técnica; por ejemplo, el ensayo en agar blando. En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, o un conjugado de los mismos) se unen específicamente al KIT e inhiben o disminuyen el desarrollo celular independiente del anclaje en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluado por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo en agar blando). En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, o un conjugado de los mismos) se unen específicamente al KIT e inhiben o disminuyen el desarrollo celular independiente del anclaje en al menos aproximadamente un 25% o un 35%, opcionalmente a aproximadamente un 75%, evaluado por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo en agar blando). En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT e inhiben o disminuyen el desarrollo celular independiente del anclaje en al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces evaluado por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo en agar blando).

Células y líneas celulares que son apropiadas para su uso en los ensayos descritos en la presente memoria relacionados con la actividad del KIT están fácilmente disponibles (por ejemplo, ATCC) o pueden ser fácilmente identificadas usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, las células y/o las líneas celulares que expresen KIT de forma endógena o que posean señalización o actividad KIT son conocidas para un experto en la técnica. En ciertas realizaciones, las células o las líneas celulares que son apropiadas para su uso en los ensayos descritos en la presente memoria pueden expresar KIT, ya sea de forma endógena o recombinante. En realizaciones particulares, las células o las líneas celulares para su uso en ensayos de proliferación celular pueden expresar KIT, de forma endógena o recombinante, y proliferar o aumentar la proliferación en respuesta a la estimulación de los ligandos de KIT (por ejemplo, SCF). Las células o las líneas celulares para su uso en ensayos de viabilidad celular pueden expresar KIT, de forma endógena o recombinante, y ejercer cambios en la viabilidad celular en respuesta a la estimulación de los ligandos de KIT (por ejemplo, SCF). Las células o las líneas celulares para su uso en ensayos de apoptosis pueden expresar KIT, de forma endógena o recombinante, y ejercer cambios en la apoptosis en respuesta a la estimulación de los ligandos de KIT (por ejemplo, SCF).

Ejemplos no limitantes de células que pueden ser usadas en los métodos y los ensayos descritos en la presente memoria incluyen células primarias, células cancerosas, células transformadas, células madre, mastocitos, células germinales primordiales, oocitos, espermatocitos, células madre embrionarias, células hematopoyéticas, células eritroleucémicas (por ejemplo, líneas celulares F36P y TF-1), líneas celulares de la leucemia mielógena humana, tales como células MO7E; líneas celulares de tumores estromales gastrointestinales, tales como ST-882, GIST-T1, GIST48, GIST48B, GIST430 y GIST882; líneas celulares de neuroblastoma, tales como SK-N-SH, SK-SY5Y, HEP1, SK-N-BE(2), SK-N-BE(ZkM17), SK-N-BE(2)C, LA-N-1 o LA-N-1-5s; líneas celulares del sarcoma de Ewing, tales como TC71, TC32, RD-ES, 5838, A4573, EWS-925, NCI-EWS-94 y NCI-EWS-95; y líneas celulares de carcinoma microcítico de pulmón, tales como H526, ECC12, TMK1, MKN7, GCIY y HGC27.

Alternativamente, las células y las líneas celulares que expresan KIT —por ejemplo, KIT humano— pueden ser generadas rutinariamente de forma recombinante. Ejemplos no limitantes de células que pueden ser diseñadas para que expresen KIT de manera recombinante incluyen células COS, células HEK 293, células CHO, fibroblastos (por ejemplo, fibroblastos humanos), tales como células NIH3T3, y MEFS. En una realización específica, las células para su uso en los métodos descritos en la presente memoria son células CHO, por ejemplo células CHO del CHO GS System™ (Lonza). En una realización particular, estas células diseñadas expresan de manera exógena el KIT humano de longitud máxima (por ejemplo, la SEQ ID NO: 1).

En ciertos aspectos, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria, que puede actuar como inhibidor de la actividad del KIT, es capaz de inhibir el desarrollo de tumores o inducir la regresión de tumores en estudios de modelos murinos. Por ejemplo, pueden introducirse líneas celulares tumorales en ratones desnudos, y pueden administrarse a los ratones anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria una o más veces, y el avance del tumor de las células tumorales inyectadas puede ser monitorizado a lo largo de un periodo de semanas y/o meses. En algunos casos, la administración de anticuerpos anti KIT a los ratones desnudos puede ocurrir antes de la introducción de las líneas celulares tumorales. Puede usarse cualquier línea celular tumoral apropiada (por ejemplo, una línea celular tumoral que exprese KIT) en los modelos murinos de xenotrasplante descritos en la presente memoria. Ejemplos no limitantes de líneas celulares tumorales para su uso en estos modelos murinos de xenotrasplante incluyen líneas celulares de leucemia megacarioblástica, tales como MO7e; líneas celulares de tumores estromales gastrointestinales, tales como ST-882, GIST-T1, GIST430, GIST48, GIST48B y GIST882; líneas celulares eritroleucémicas humanas, tales como HEL y TF-1; la línea celular de la leucemia promielocítica, HL60;

líneas celulares de neuroblastoma, tales como SK-N-SH, SK-SY5Y, H-EP1, SK-N-BE(2), SK-N-BE(ZkM17), SK-N-BE(2)C, LA-N-1 o LA-N-1-5s; líneas celulares del sarcoma de Ewing, tales como TC71, TC32, RD-ES, 5838, A4573, EWS-925, NCI-EWS-94 y NCI-EWS-95; y líneas celulares de carcinoma microcítico de pulmón, tales como H526, DMS153, DMS79, ECC12, TMK1, MKN7, GCIY y HGC27. En una realización específica, una línea celular tumoral para su uso en un modelo murino de xenotrasplante es la línea celular GIST882, GIST430, GIST48, GIST48B, HEL, HL60, H526, DMS153 o DMS79. En ciertas realizaciones, pueden generarse de manera recombinante líneas celulares adecuadas para su uso en modelos tumorales de xenotrasplante que expresen KIT en la célula. En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, o un conjugado los mismos) se unen específicamente al KIT e inhiben el crecimiento tumoral o inducen la regresión del tumor en un modelo murino en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica. En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, o un conjugado de los mismos) se unen específicamente al KIT e inhiben el crecimiento tumoral o inducen la regresión del tumor en un modelo murino en al menos aproximadamente un 25% o un 35%, opcionalmente a aproximadamente un 75%, evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica. En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT e inhiben el crecimiento tumoral o inducen la regresión del tumor en un modelo murino en al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica. La determinación del desarrollo tumoral o de la regresión del tumor puede ser evaluada monitorizando el tamaño del tumor a lo largo de un periodo de tiempo, tal como mediante la medicación física de tumores palpables, u otros métodos de detección visual. Por ejemplo, pueden generarse líneas celulares tumorales para expresar de manera recombinante un agente de visualización, tal como la proteína fluorescente verde (GFP) o la luciferasa; luego puede realizarse una visualización *in vivo* de la GFP por microscopía, y la visualización *in vivo* de la luciferasa puede realizarse administrando sustrato de luciferasa a los ratones xenotrasplantados y detectar la luminiscencia debida a la enzima luciferasa procesando el sustrato de luciferasa. El grado o nivel de detección de GFP o luciferasa está correlacionado con el tamaño del tumor en los ratones xenotrasplantados.

En ciertos aspectos, anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria se unen específicamente a antígeno de KIT y pueden aumentar la supervivencia de animales en modelos de xenotrasplante tumoral. En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, o un conjugado de los mismos) se unen específicamente al KIT y aumentan la supervivencia de ratones en modelos de xenotrasplante tumoral en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica. En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo) se unen específicamente al KIT y aumentan la supervivencia de ratones en modelos de xenotrasplante tumoral en al menos aproximadamente un 25% o un 35%, opcionalmente a aproximadamente un 75%, evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica. En realizaciones específicas, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen específicamente al KIT y aumentan la supervivencia de ratones en modelos de xenotrasplante tumoral en al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica. Se puede determinar la supervivencia trazando una curva de supervivencia del número de ratones supervivientes con respecto al tiempo (por ejemplo, días o semanas) tras la inyección de la línea celular tumoral.

En la presente memoria se proporcionan anticuerpos que se unen inmuno-específicamente un polipéptido KIT —por ejemplo, un polipéptido KIT humano; por ejemplo, una región D4 de KIT; por ejemplo, del KIT humano— con una afinidad particular.

La “afinidad” de un anticuerpo descrito en la presente memoria hacia un epítipo (por ejemplo, un epítipo de KIT) es un término bien entendido en la técnica y se refiere al grado o intensidad de la unión de un anticuerpo a un epítipo. La afinidad puede ser medida y/o expresada de varias maneras conocidas en la técnica, incluidas, sin limitación, la constante de disociación de equilibrio (K_D o K_d), la constante de disociación de equilibrio aparente (K_D' o K_d'), y la CI_{50} (cantidad necesaria para efectuar una inhibición del 50% en un ensayo de competición). Se entiende que, para los fines descritos en la presente memoria, una afinidad es una afinidad media para una población dada de anticuerpos que se unen a un epítipo. Los valores de K_D' descritos en la presente memoria en términos de miligramos (mg) de Ig por mL o mg/mL indican mg de Ig por mL de suero, aunque puede usarse plasma. Cuando se usa la afinidad de anticuerpos como base de la administración de los métodos de tratamiento descritos en la presente memoria, o para la selección para los métodos de tratamiento descritos en la presente memoria, la afinidad de los anticuerpos puede ser medida antes y/o durante el tratamiento, y los valores pueden ser usados por un clínico para evaluar si un paciente humano es un candidato apropiado para el tratamiento.

En aspectos específicos, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos (o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, o conjugados de los mismos) que tienen una afinidad de unión elevada (por ejemplo, anticuerpos que tienen una K_D inferior a 250 nM, 100 nM, 50 nM, 10 nM, 1 nM, 500 pM, 200 pM, 100 pM o 50 pM) hacia un antígeno de KIT, preferentemente un antígeno de KIT humano, en particular la región D4/D5 de un KIT humano.

- 5 En realizaciones específicas, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo) se une inmuno-específicamente a un antígeno de KIT (por ejemplo, a una región D4/D5 de KIT; por ejemplo, KIT humano), y tiene una constante de disociación (K_D) inferior a 500.000 pM (500 nM), inferior a 100.000 pM (100 nM), inferior a 50.000 pM (50 nM), inferior a 10.000 pM (10 nM), inferior a 3.000 pM (3 nM), inferior a 2.500 pM (2,5 nM), inferior a 2.000 pM, inferior a 1.500 pM, inferior a 1.000 pM, inferior a 750 pM, inferior a 500 pM, inferior a 250 pM, inferior a 200 pM, inferior a 150 pM, inferior a 100 pM, inferior a 75 pM evaluada usando un ensayo descrito en la presente memoria o conocido para un experto en la técnica (por ejemplo, un ensayo Biacore™) (Biacore™ International AB, Uppsala, Suecia). En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo) se une inmuno-específicamente a un antígeno de KIT (por ejemplo, a una región D4/D5 de KIT; por ejemplo, KIT humano), y tiene una K_D en el intervalo de 25 a 100.000 pM, de 25 a 75.000 pM, de 25 a 50.000 pM, de 25 a 40.000 pM, de 25 a 30.000 pM, de 25 a 20.000 pM, de 25 a 10.000 pM, de 25 a 1.000 pM, de 25 a 500 pM, de 25 a 250 pM, de 25 a 100 pM o de 25 a 50 pM evaluada usando métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, un ensayo Biacore™, un ensayo usando un instrumento KinExA 3000). En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo) se une inmuno-específicamente a un antígeno de KIT (por ejemplo, a una región D4 de KIT, por ejemplo KIT humano), y tiene una K_D de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 250 nM, o cualquier valor intermedio, evaluada usando métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, un ensayo Biacore™, un ensayo usando un instrumento KinExA 3000).

- 25 En realizaciones específicas, un anticuerpo anti KIT (o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo) se une inmuno-específicamente a un antígeno de KIT (por ejemplo, a una región D4 de KIT, por ejemplo KIT humano), y tiene una concentración en una unión del 50% al antígeno inferior a 3000 pM (3 nM), inferior a 2500 pM (2,5 nM), inferior a 2000 pM, inferior a 1500 pM, inferior a 1000 pM, inferior a 750 pM, inferior a 500 pM, inferior a 250 pM, inferior a 200 pM, inferior a 150 pM, inferior a 100 pM, inferior a 75 pM evaluada usando un ensayo descrito en la presente memoria o conocido para un experto en la técnica (por ejemplo, ELISA en fase sólida, según se describe en la Sección 6). En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo) se une inmuno-específicamente a un antígeno de KIT (por ejemplo, a una región D4 de KIT, por ejemplo KIT humano), y tiene una concentración en una unión del 50% al antígeno en el intervalo de 25 a 500.000 pM (500 nM), 25 a 250.000 pM (250 nM), 25 a 100.000 pM (100 nM), 25 a 75.000 pM (75 nM), 25 a 50.000 pM (50 nM), 25 a 40.000 pM (40 nM), 25 a 30.000 pM (30 nM), 25 a 20.000 pM (20 nM), 25 a 10.000 pM (10 nM), 25 a 1.000 pM (1 nM), 25 a 500 pM, 25 a 250 pM, 25 a 100 pM, o 25 a 50 pM evaluada usando métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, ELISA en fase sólida, según se describe en la Sección 6). En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo) se une inmuno-específicamente a un antígeno de KIT (por ejemplo, a una región D4 de KIT, por ejemplo KIT humano), y tiene una concentración en una unión del 50% al antígeno de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 25 nM, o cualquier valor intermedio, evaluada usando métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, ELISA en fase sólida, según se describe en la Sección 6). En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo) se une inmuno-específicamente a un antígeno de KIT (por ejemplo, a una región D4 de KIT, por ejemplo KIT humano), y tiene una concentración en una unión del 50% al antígeno de aproximadamente 50 pM a aproximadamente 500 pM, o cualquier valor intermedio, evaluada usando métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, ELISA en fase sólida, según se describe en la Sección 6). En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo) se une inmuno-específicamente a un antígeno de KIT (por ejemplo, a una región D4 de KIT; por ejemplo, KIT humano), y tiene una concentración en una unión del 50% de aproximadamente 0,5 nM, 0,25 nM, 0,1 nM, 1 nM, 1,5 nM, 2 nM, 2,5 nM, 3 nM, 3,5 nM, 4 nM, 4,5 nM, 5 nM, 5,5 nM, 6 nM, 6,5 nM, 7 nM, 8 nM, 9 nM, 10 nM, 11 nM, 12 nM, 13 nM, 14 nM, 15 nM, 16 nM, 17 nM, 18 nM, 19 nM, 20 nM, 30 nM, 40 nM, 50 nM, 60 nM, 70 nM, 80 nM, 90 nM, 100 nM, 150 nM, 200 nM, 250 nM, 300 nM, 350 nM, 400 nM o 500 nM, o menor, evaluada usando métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, ELISA en fase sólida, según se describe en la Sección 6). En una realización particular, anticuerpos descritos en la presente memoria se unen inmuno-específicamente a antígeno de KIT (por ejemplo, a una región D4 de KIT; por ejemplo, KIT humano), y tienen una concentración en una unión del 50% de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 10 nM, evaluada usando métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, ELISA, un ensayo usando el instrumento KinExA 3000, o un ensayo Biacore™).

- 60 En la técnica son fácilmente disponibles y se describen métodos para determinar la afinidad de un anticuerpo hacia su antígeno diana. Por ejemplo, las afinidades y las propiedades de unión de un anticuerpo hacia su antígeno diana pueden determinarse mediante diversos métodos de ensayo *in vitro* (ensayos basados en la bioquímica o la inmunología) conocidos en la técnica, tales como métodos de equilibrio (por ejemplo, el ensayo por inmunoabsorción

ligado a enzimas (ELISA), o un radioinmunoensayo (RIA)), o métodos cinéticos (por ejemplo, análisis Biacore™) y otros, tales como ensayos de unión indirecta, ensayos de inhibición competitiva, transferencia de energía de resonancia de fluorescencia (FRET), inmunoprecipitación, electroforesis y cromatografía en gel (por ejemplo, filtración en gel). Estos y otros métodos pueden utilizar un marcador en uno o más de los componentes que se estén examinando y/o emplear diversos métodos de detección, incluyendo, sin limitación, marcadores cromogénicos, fluorescentes, luminiscentes o isotópicos. En ciertas realizaciones, no es necesario el uso de marcadores; por ejemplo, los sistemas Biacore™ utilizan el fenómeno natural de la resonancia plasmónica de superficie (SPR) para suministrar datos en tiempo real, sin el uso de marcadores. Puede encontrarse una descripción detallada de las afinidades y la cinética de unión en Paul, W. E., ed., *Fundamental Immunology*, 4ª ed. (Lippincott-Raven, Filadelfia 1999), que se centra en las interacciones anticuerpo-inmúnógeno.

En ciertos aspectos, la afinidad de un anticuerpo descrito en la presente memoria hacia un antígeno de KIT —por ejemplo, del KIT humano; por ejemplo hacia una región D4 de KIT (por ejemplo, del KIT humano)— puede ser calificada indirectamente usando ensayos a base de células. Por ejemplo, células que expresen KIT en la superficie de su membrana celular pueden ser puestas en contacto con anticuerpos anti KIT, y pueden determinarse las actividades celulares aguas abajo del KIT usando ensayos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la fosforilación del dominio citoplasmático del KIT puede ser determinada por inmunotransferencia (o inmunoelectrotransferencia) tras la puesta en contacto de las células con un anticuerpo anti KIT; se obtienen y procesan extractos celulares para la inmunotransferencia (por ejemplo, sometiendo los extractos celulares a electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) y transfiriendo las proteínas separadas en el gel a una membrana (por ejemplo, de nitrocelulosa o fluoruro de polivinilideno (PVDF)) con un anticuerpo que se une específicamente a una tirosina fosforilada en el dominio citoplasmático de KIT, pero no se une a una tirosina no fosforilada.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria se une específicamente a un antígeno de KIT —por ejemplo, del KIT humano; por ejemplo a una región D4 de KIT (por ejemplo, del KIT humano)— e induce o potencia la dimerización y la fosforilación del KIT, en presencia o ausencia del ligando de KIT SCF. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria puede inhibir o disminuir la unión de ligandos de KIT —por ejemplo, SCF— a KIT (es decir, un anticuerpo anti KIT puede competir con un ligando de KIT —por ejemplo, SCF— para la unión a KIT). En tal caso, las células pueden ser puestas en contacto con un anticuerpo anti KIT y un ligando de KIT, y se puede determinar el grado de inhibición de la fosforilación de KIT como una indicación del grado en el que el anticuerpo anti KIT compete con el ligando de KIT para la unión a KIT.

Los anticuerpos incluyen, sin limitación, anticuerpos monoclonales, anticuerpos producidos de forma recombinante, anticuerpos multiespecíficos (incluyendo anticuerpos biespecíficos), anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos, anticuerpos sintéticos, anticuerpos tetraméricos que comprenden una molécula con dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, un monómero de cadena ligera de anticuerpo, un monómero de cadena pesada de anticuerpo, un dímero de cadena ligera de anticuerpo, un dímero de cadena pesada de anticuerpo, una pareja de cadena ligera de anticuerpo-cadena pesada de anticuerpo, intracuerpos, anticuerpos heteroconjugados, anticuerpos de un único dominio, anticuerpos monovalentes, anticuerpos monocatenarios o Fv monocatenarios (scFv) (incluyendo, por ejemplo, los monoespecíficos, los biespecíficos, etc.), anticuerpos camélidos, anticuerpos, fragmentos Fab, fragmentos F(ab'), Fv con enlace disulfuro (sdFv), anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id) (incluyendo, por ejemplo, anticuerpos anti-anti-Id), y fragmentos de unión a epítopos de cualquiera de los anteriores. En ciertas realizaciones, los anticuerpos descritos en la presente memoria se refieren a poblaciones de anticuerpos policlonales. Los anticuerpos pueden ser cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY), cualquier clase (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ o IgA₂), o cualquier subclase (por ejemplo, IgG2a o IgG2b) de molécula de inmunoglobulina. En ciertas realizaciones, los anticuerpos descritos en la presente memoria son anticuerpos IgG, o una clase (por ejemplo, IgG₁ o IgG₄ humanas) o subclase de los mismos. En realizaciones específicas, un anticuerpo monoclonal es un anticuerpo producido por un solo hibridoma u otra célula, uniéndose inmuno-específicamente el anticuerpo se une a una región D4 del epítipo del KIT humano, según se determina, por ejemplo, mediante ELISA u otro ensayo de unión a antígeno o de unión competitiva conocido en la técnica o en los Ejemplos proporcionados en la presente memoria. El término “monoclonal” no está limitado a ningún método particular de creación del anticuerpo.

En una realización particular, un anticuerpo en la presente memoria se proporciona un fragmento Fab que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT, tal como la región D4 de KIT. En una realización específica, los anticuerpos descritos en la presente memoria son anticuerpos monoclonales o anticuerpos monoclonales aislados. En otra realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria es un anticuerpo monoclonal humanizado. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria es un anticuerpo recombinante; por ejemplo, un anticuerpo humano recombinante, un anticuerpo humanizado recombinante o un anticuerpo monoclonal recombinante. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria contiene secuencias no humanas de aminoácidos; por ejemplo, CDR no humanas o residuos de marco no humanos (por ejemplo, de un primate no humano).

En realizaciones particulares proporcionadas en la presente memoria, se pueden aislar, preparar, expresar o crear anticuerpos recombinantes por medios recombinantes, tales como anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante transfectado a una célula anfitriona, anticuerpos aislados de una biblioteca de anticuerpos

combinatorios recombinantes, o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique la creación, por ejemplo, mediante síntesis, ingeniería genética de secuencias de ADN que codifiquen secuencias de inmunoglobulina humana, o el empalme de secuencias que codifican inmunoglobulinas humanas — por ejemplo, secuencias de genes de inmunoglobulina humana— a otras secuencias de ese tipo. En ciertas realizaciones, las secuencias de aminoácidos de tales anticuerpos recombinantes han sido modificadas de modo que las secuencias de aminoácidos de tales anticuerpos —por ejemplo, regiones VH y/o VL— son secuencias que no existen de forma natural dentro del repertorio de líneas germinales de anticuerpos de un organismo *in vivo*; por ejemplo un repertorio de líneas germinales murinas o humanas. En una realización particular, se puede obtener un anticuerpo recombinante ensamblando varios fragmentos de secuencias que existen de forma natural en un organismo (por ejemplo, un primate, tal como un ser humano) creando una secuencia compuesta de un anticuerpo recombinante, no existiendo la secuencia compuesta de forma natural dentro de un organismo (por ejemplo, un primate, tal como un ser humano).

Los anticuerpos proporcionados en la presente memoria incluyen moléculas de inmunoglobulina de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase de molécula de inmunoglobulina. En una realización específica, un anticuerpo proporcionado en la presente memoria es un anticuerpo de IgG (por ejemplo, un anticuerpo de IgG humana), o una clase (por ejemplo, IgG1 o IgG4 humana) o una subclase del mismo. En otra realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria es un anticuerpo de IgG1 (por ejemplo, de IgG1 humana (isotipo a, z o f)) o de IgG4. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria es un anticuerpo completo o entero; por ejemplo, un anticuerpo humano, humanizado completo o entero o humano compuesto.

Los anticuerpos proporcionados en la presente memoria pueden incluir fragmentos de anticuerpos que conservan la capacidad de unirse específicamente a un antígeno; por ejemplo, a un epítipo de KIT (por ejemplo, un epítipo de KIT dentro de un polipéptido KIT que contiene una región D4 del KIT humano). En una realización específica, los fragmentos incluyen fragmentos Fab (un fragmento de anticuerpo que contiene el dominio de unión al antígeno y comprende una cadena ligera y parte de una cadena pesada (es decir, los dominios VH y CH1 de una cadena pesada) puenteadas por un enlace disulfuro); Fab' (un fragmento de anticuerpo que contiene un solo dominio de unión a antígeno que comprende un Fab y una porción adicional de la cadena pesada hasta la región bisagra); F(ab')₂ (dos moléculas Fab' unidas por enlaces disulfuro intercatenarios en las regiones bisagra de las cadenas pesadas; las moléculas Fab' pueden ser dirigidas hacia epítopos iguales o diferentes); un Fab biespecífico (una molécula Fab que tiene dos dominios de unión a antígeno, cada uno de los cuales puede ser dirigido a un epítipo diferente); una cadena Fab monocatenaria que comprende una región variable, también denominada sFv (la región variable determinativa de la unión a antígenos de una sola cadena ligera y una sola cadena pesada de un anticuerpo ligadas entre sí por una cadena de 10-25 aminoácidos); un Fv ligado por disulfuro, o dsFv (la región variable determinativa de la unión a antígenos de una sola cadena ligera y una sola cadena pesada de un anticuerpo ligadas entre sí por un enlace disulfuro); una VH camelizada (la región variable determinativa de la unión a antígenos de una sola cadena pesada de un anticuerpo en la que algunos aminoácidos en la interfaz VH son los encontrados en la cadena pesada de anticuerpos de camello que se dan de forma natural); un sFv biespecífico (una molécula de sFv o de dsFv que tiene dos dominios de unión a antígenos, cada uno de los cuales puede ser dirigido a un epítipo diferente); un diacuerpo (un sFv dimerizado formado cuando el dominio VH de un primer sFv se ensambla con el dominio VL de un segundo sFv y el dominio VL del primer sFv se ensambla con el dominio VH del segundo sFv; las dos regiones de unión a antígenos del diacuerpo pueden ser dirigidas hacia epítopos iguales o diferentes); y un triacuerpo (un sFv trimerizado, formado de manera similar a un diacuerpo, pero en el cual se crean tres dominios de unión a antígenos en un único complejo; los tres dominios de unión a antígeno pueden ser dirigidos hacia epítopos iguales o diferentes). Los anticuerpos proporcionados en la presente memoria también pueden incluir una o más secuencias de CDR de un anticuerpo. Las secuencias de CDR pueden ser ligadas entre sí en un supercántigo cuando hay presentes dos o más secuencias de CDR. En ciertas realizaciones, un anticuerpo comprende un Fv monocatenario ("scFv"). Los scFv son fragmentos de anticuerpos que comprenden los dominios VH y VL de un anticuerpo, estando presentes estos dominios en una sola cadena polipeptídica. Generalmente, el polipéptido del scFv comprende, además, un conector de polipéptidos entre los dominios VH y VL que permite que el scFv forme la estructura deseada para la unión a antígeno. Para una reseña de los scFv, véase a Plückthun en *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg y Moore ed. Springer-Verlag, Nueva York, pp. 269-315 (1994). Sin limitación a ninguna teoría particular, las moléculas de Fv pueden ser capaces de penetrar tejidos debido a su pequeño tamaño. Un anticuerpo completo puede ser escindido enzimáticamente por pepsina para producir un fragmento F(ab')₂, o puede ser escindido enzimáticamente por papaína para producir dos fragmentos Fab.

En ciertas realizaciones, los anticuerpos descritos en la presente memoria son anticuerpos monoclonales humanos, humanos compuestos o humanizados. En una realización particular, un anticuerpo descrito en la presente memoria es un anticuerpo diseñado; por ejemplo, un anticuerpo producido por métodos recombinantes. En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria es un anticuerpo humanizado que comprende una o más CDR no humanas (por ejemplo, de roedor o murinas) y una o más regiones marco (FR) humanas, y, opcionalmente, una región constante de cadena pesada y/o una región constante de cadena ligera humanas. En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria comprende una o más regiones marco de primate (o de primate no humano). En una realización específica, un anticuerpo descrito en la presente memoria no comprende regiones marco de primate no humano.

Los anticuerpos proporcionados en la presente memoria pueden incluir anticuerpos que comprenden modificaciones químicas; por ejemplo, anticuerpos que han sido modificados químicamente; por ejemplo, por unión covalente de cualquier tipo de molécula al anticuerpo. Por ejemplo, pero no a título de limitación, un anticuerpo anti KIT puede ser glucosilado, acetilado, pegilado, fosforilado o amidado, puede ser derivatizado por medio de grupos protectores/de bloqueo, o puede comprender, además, un ligando celular u otra proteína o péptido, etc. Por ejemplo, un anticuerpo proporcionado en la presente memoria puede ser modificado químicamente; por ejemplo, por glucosilación, acetilación, pegilación, fosforilación, amidación, derivatización por grupos protectores/de bloqueo conocidos, escisión proteolítica, vinculación de un ligando celular o a otra proteína, etc. Además, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria puede contener uno o más aminoácidos no clásicos.

En una realización particular, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo anti KIT que ha sido modificado de una manera adecuada para su fabricación a gran escala; por ejemplo, en la plataforma de fabricación de Lonza (Basilea, Suiza). Por ejemplo, puede usarse la plataforma de tecnología BI-HEX® (Boehringer Ingelheim, Alemania) para adaptar los anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria para una fabricación adecuada a gran escala en sistemas de expresión de células de mamífero recombinantes. Tal adaptación puede implicar la clonación de secuencias de polinucleótidos que codifiquen los dominios necesarios de un anticuerpo anti KIT, tales como una o más CDR o FR, en un vector adecuado de expresión que también contenga secuencias de polinucleótidos que codifiquen regiones constantes adecuadas, para que se produzca un anticuerpo entero. Las secuencias de polinucleótidos proporcionadas por los vectores de expresión son secuencias de nucleótidos que pueden ser optimizadas para maximizar la producción y la estabilidad de los anticuerpos para las condiciones y los procedimientos de purificación del cultivo celular.

5.1.1. Conjugados

En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos humanos o humanizados), o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, conjugados o fusionados de forma recombinante con un agente diagnóstico, detectable o terapéutico o a cualquier otra molécula. Los anticuerpos conjugados o fusionados de forma recombinante pueden ser útiles, por ejemplo, para monitorizar o pronosticar la aparición, el desarrollo, el avance y/o la gravedad de un trastorno o enfermedad asociado con KIT; por ejemplo, como parte de un procedimiento de prueba clínica, tal como determinar la eficacia de una terapia particular. Los anticuerpos conjugados o fusionados de forma recombinante pueden ser útiles, por ejemplo, para el tratamiento o la gestión de un trastorno asociado con KIT (por ejemplo, cáncer), o para el tratamiento o la gestión de los efectos de un trastorno asociado con KIT (por ejemplo, cáncer). Los anticuerpos descritos en la presente memoria también pueden ser conjugados con una molécula (por ejemplo, polietilenglicol) que puedan afectar a una o más propiedades biológicas y/o moleculares de los anticuerpos; por ejemplo, la estabilidad (por ejemplo, en suero), la vida media, la solubilidad y la antigenicidad.

En un aspecto particular, en la presente memoria se proporciona un conjugado que comprende un agente (por ejemplo, un agente terapéutico) ligado a un anticuerpo descrito en la presente memoria (o a un fragmento de unión a antígeno del mismo), anticuerpo que se une inmunoespecíficamente a una región D4 del KIT humano (por ejemplo, la SEQ ID NO: 15). En una realización específica, un anticuerpo conjugado se une específicamente a una región D4 de KIT (por ejemplo, del KIT humano), y comprende un anticuerpo que comprende las CDR definidas en la Tabla 1, la Tabla 2 o la Tabla 3. En una realización específica, un anticuerpo conjugado se une específicamente a una región D4 de KIT (por ejemplo, del KIT humano) y comprende una región de cadena VL que comprenden una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, 20 y 21, respectivamente, y/o una región de cadena VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, 17 y 18, respectivamente. En una realización específica, un anticuerpo conjugado se une específicamente a una región D4 de KIT (por ejemplo, del KIT humano), y comprende uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20. En una realización específica, un anticuerpo conjugado proporcionado en la presente memoria se une específicamente a una región D4 de KIT (por ejemplo, del KIT humano), y comprende un anticuerpo que comprende una VL y/o una VH que comprenden CDR seleccionadas de la Tabla 1, la Tabla 2 o la Tabla 3, y FR seleccionadas de las Tablas 5A-5D. En una realización específica, un anticuerpo conjugado proporcionado en la presente memoria se une específicamente a una región D4 de KIT (por ejemplo, del KIT humano), y comprende un anticuerpo que comprende una VL que comprende la SEQ ID NO: 12 y/o una VH que comprende la SEQ ID NO: 11. En una realización, un anticuerpo que está conjugado es aquel que se une a una región D4 del KIT humano con una afinidad —por ejemplo, una CE_{50} — de aproximadamente 200 pM o menos. En otra realización, un anticuerpo que está conjugado es aquel que inhibe una actividad biológica de KIT. En realizaciones específicas, un conjugado comprende un anticuerpo descrito en la presente memoria y una molécula (por ejemplo, un resto terapéutico o farmacológico), estando ligado el anticuerpo directamente a la molécula, o por medio de uno o más conectores. En ciertas realizaciones, un anticuerpo está conjugado covalentemente con una molécula. En una realización particular, un anticuerpo está conjugado de forma no covalente con una molécula. En realizaciones específicas, un anticuerpo descrito en la presente memoria —por ejemplo, un anticuerpo conjugado con un agente— se une al KIT humano de la forma natural. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria —por ejemplo, un anticuerpo conjugado con un agente— se une a un dominio extracelular del KIT humano que comprende una mutación; por ejemplo una mutación somática asociada con el cáncer (por ejemplo,

GIST), tal como una mutación en el exón 9 del KIT humano en la que están duplicados los residuos Ala y Tyr en las posiciones 502 y 503.

Tal diagnóstico y tal detección pueden lograrse, por ejemplo, emparejando el anticuerpo con moléculas o sustancias detectables incluyendo, sin limitación, diversas enzimas, tales como, sin limitación, peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa o acetilcolinesterasa; grupos protésicos, tales como, sin limitación, estreptavidina/biotina y avidina/biotina; materiales fluorescentes, tales como, sin limitación, umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina fluoresceína, cloruro de dansilo o ficoeritrina; materiales luminiscentes, tales como, sin limitación, luminol; materiales bioluminiscentes, tales como, sin limitación, luciferasa, luciferina y aequorina; materiales radiactivos, tales como, sin limitación, iodo (^{131}I , ^{125}I , ^{123}I e ^{121}I), carbono (^{14}C), azufre (^{35}S), tritio (^3H), indio (^{115}In , ^{113}In , ^{112}In , e ^{111}In), tecnecio (^{99}Tc), talio (^{201}Tl), galio (^{68}Ga , ^{67}Ga), paladio (^{103}Pd), molibdeno (^{99}Mo), xenón (^{133}Xe), flúor (^{18}F), samario (^{153}Sm), lutecio (^{177}Lu), gadolinio (^{159}Gd), promecio (^{149}Pm), lantano (^{140}La), yterbio (^{175}Yb , ^{166}Yb), holmio (^{166}Ho), yterbio (^{90}Y , ^{47}Sc , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{142}Pr , ^{105}Rh , ^{97}Ru , ^{68}Ge , ^{57}Co , ^{65}Zn , ^{85}Sr , ^{32}P , ^{153}Gd , ^{169}Yb , ^{51}Cr , ^{54}Mn , ^{75}Se , ^{113}Sn y ^{117}Sn ; y metales emisores de positrones usando diversas tomografías de emisión positrónica, e iones metálicos paramagnéticos no radiactivos.

Se proporcionan anticuerpos descritos en la presente memoria, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, conjugados o fusionados de forma recombinante con un resto terapéutico (o a uno o más restos terapéuticos) y usos de tales anticuerpos. El anticuerpo puede estar conjugado o fusionado de forma recombinante con un resto terapéutico, tal como una citotoxina; por ejemplo, un agente citoestático o citocida, un ion metálico radiactivo; por ejemplo, emisores de partículas alfa. Una citotoxina o agente citotóxico incluye cualquier agente que sea perjudicial para las células. Los restos terapéuticos incluyen, sin limitación, auristatina o un derivado de la misma —por ejemplo, monometil auristatina E (MMAE), monometil auristatina F (MMAF), auristatina PYE y auristatina E (AE) (véanse, por ejemplo, la patente estadounidense nº 7.662.387 y las publicaciones de solicitud de patente estadounidense nºs 2008/0300192 y 2008/0025989)—; un agente disruptor de microtúbulos —por ejemplo, maitansina o un derivado de la misma; por ejemplo, maitansinoide DM1 (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses nºs 7.851.432, 7.575.748 y 5.416.064)—; un profármaco —por ejemplo, un profármaco de un análogo de CC-1065 (raquelmicina)—; antimetabolitos (por ejemplo, metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracil dacarbazina); agentes alquilantes (por ejemplo, mecloretamina, tioepa clorambucilo, melfalán, carmustina (BCNU) y lomustina (CCNU), ciclotosfamida, busulfán, dibromomanitol, estreptozotocina, mitomicina C y cis-diaminodicloroplatino (II) (DDP) y cisplatino); agentes alquilantes de unión al surco menor; antraciclinas (por ejemplo, daunorubicina (anteriormente daunomicina) y doxorubicina); antibióticos (por ejemplo, dactinomicina (anteriormente actinomicina), bleomicina, mitramicina y antramycin (AMC)); moléculas de auristatina (por ejemplo, auristatina PHE, briostatina 1, y solastatina 10; véanse Woyke et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:3802-8 (2002), Woyke et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:3580-4 (2001), Mohammad et al., *Anticancer Drugs* 12:735-40 (2001), Wall et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 266:76-80 (1999), Mohammad et al., *Int. J. Oncol.* 15:367-72 (1999); hormonas (por ejemplo, glucocorticoides, progestinas, andrógenos y estrógenos), inhibidores de la enzima reparadora del ADN (por ejemplo, etopósido o topotecán), inhibidores de las quinasas (por ejemplo, el compuesto ST1571, mesilato de imatinib (Kantarjian et al., *Clin Cancer Res.* 8(7):2167-76 (2002)); agentes citotóxicos (por ejemplo, paclitaxel, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorubicina, dihidroxiantraceno diona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-dihidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol y puomicina y análogos u homólogos de los mismos, y los compuestos dados a conocer en las patentes estadounidenses nºs 6.245.759, 6.399.633, 6.383.790, 6.335.156, 6.271.242, 6.242.196, 6.218.410, 6.218.372, 6.057.300, 6.034.053, 5.985.877, 5.958.769, 5.925.376, 5.922.844, 5.911.995, 5.872.223, 5.863.904, 5.840.745, 5.728.868, 5.648.239, 5.587.459); inhibidores de la farnesiltransferasa (por ejemplo, R115777, BMS-214662, y los dados a conocer, por ejemplo, por las patentes estadounidenses nºs 6.458.935, 6.451.812, 6.440.974, 6.436.960, 6.432.959, 6.420.387, 6.414.145, 6.410.541, 6.410.539, 6.403.581, 6.399.615, 6.387.905, 6.372.747, 6.369.034, 6.362.188, 6.342.765, 6.342.487, 6.300.501, 6.268.363, 6.265.422, 6.248.756, 6.239.140, 6.232.338, 6.228.865, 6.228.856, 6.225.322, 6.218.406, 6.211.193, 6.187.786, 6.169.096, 6.159.984, 6.143.766, 6.133.303, 6.127.366, 6.124.465, 6.124.295, 6.103.723, 6.093.737, 6.090.948, 6.080.870, 6.077.853, 6.071.935, 6.066.738, 6.063.930, 6.054.466, 6.051.582, 6.051.574 y 6.040.305); inhibidores de la topoisomerasa (por ejemplo, camptotecina; irinotecán; SN-38; topotecán; 9-aminocamptotecina; GG-211 (GI 147211); DX-8951f; IST-622; rubitecán; pirazoloacridina; XR-5000; saintopina; UCE6; UCE1022; TAN-1518A; TAN 1518B; KT6006; KT6528; ED-110; NB-506; ED-110; NB-506 y rebecamicina); bulgareína; enlazadores al surco menor del ADN, como la tinción 33342 de Hoescht y la tinción 33258 de Hoescht; nitidina; fagaronina; epiberberina; coralina; beta-lapacona; BC-4-1; bisfosfonatos (por ejemplo, alendronato, cimadronato, clodronato, tiludronato, etidronato, ibandronato, neridronato, olpandronato, risedronato, piridronato, pamidronato, zolendronato); inhibidores de la HMG-CoA reductasa (por ejemplo, lovastatina, simvastatina, atorvastatina, pravastatina, fluvastatina, estatina, cerivastatina, lescol, lupitor, rosuvastatina y atorvastatina); oligonucleótidos no codificantes (por ejemplo, los datos a conocer en las patentes estadounidenses nºs 6.277.832, 5.998.596, 5.885.834, 5.734.033 y 5.618.709); inhibidores de la adenosín desaminasa (por ejemplo, fosfato de fludarabina y 2-clorodesoxiadenosina); ibritumomab tiuxetano (Zevalin®); tositumomab (Bexxar®) y sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, clatratos y profármacos de los mismos. En una realización, un anticuerpo que está conjugado con tal resto terapéutico/farmacológico es aquel que se une a una región D4 del KIT humano con una afinidad inferior a aproximadamente 200 pM. En otra realización, un anticuerpo que está conjugado con tal resto terapéutico/farmacológico es aquel que inhibe una actividad biológica de KIT. En

una realización específica, un anticuerpo que está conjugado con tal resto terapéutico/farmacológico es aquel que comprende las CDR definidas en la Tabla 1 (por ejemplo, CDR1 VL, CDR2 VL y CDR3 VL que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, 20 y 21, respectivamente, y/o una región de cadena VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, 17 y 18, respectivamente), o en la Tabla 2 o la Tabla 3. En una realización específica, un anticuerpo que está conjugado con tal resto terapéutico/farmacológico es aquel que comprende una VL que comprende la SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10 o 12 o una secuencia definida en las Tablas 5B y 5D, y/o una VH que comprende la SEQ ID NO: 2, 3, 4, 5, 6 u 11 o una secuencia definida en las Tablas 5A y 5C.

En realizaciones particulares, un resto terapéutico o resto farmacológico es un fármaco antitubulina, tal como una auristatina o un derivado de la misma. Ejemplos no limitantes de auristatinas incluyen monometil auristatina E (MMAE), monometil auristatina F (MMAF), auristatina PYE y auristatina E (AE) (véanse, por ejemplo, la patente estadounidense nº 7.662.387 y las publicaciones de solicitud de patente estadounidense nº 2008/0300192 y 2008/0025989). En ciertas realizaciones, un resto terapéutico o resto farmacológico es un agente disruptor de microtúbulos, tal como maitansina o un derivado de la misma; por ejemplo, maitansinoide DM1 o DM4 (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses nº 7.851.432, 7.575.748 y 5.416.064). En ciertas realizaciones, un resto terapéutico o resto farmacológico es un profármaco; por ejemplo, un profármaco de un análogo de CC-1065 (raquelmicina) (véanse, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente estadounidense nº 2008/0279868, y las publicaciones de solicitud de patente internacional PCT nº WO 2009/017394, WO 2010/062171 y WO 2007/089149). En una realización, un anticuerpo que está conjugado con tal resto terapéutico/farmacológico es aquel que se une a una región D4 del KIT humano con una afinidad inferior a aproximadamente 200 pM. En otra realización, un anticuerpo que está conjugado con tal resto terapéutico/farmacológico es aquel que inhibe una actividad biológica de KIT. En una realización específica, un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) que está conjugado con tal resto terapéutico/farmacológico es aquel que comprende las CDR definidas en la Tabla 1 (por ejemplo, CDR1 VL, CDR2 VL y CDR3 VL que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, 20 y 21, respectivamente, y/o una región de cadena VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, 17 y 18, respectivamente), o en la Tabla 2 o la Tabla 3. En una realización específica, un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) que está conjugado con tal resto terapéutico/farmacológico es aquel que comprende una VL que comprende la SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10 o 12 o una secuencia definida en las Tablas 5B y 5D, y/o una VH que comprende la SEQ ID NO: 2, 3, 4, 5, 6 u 11 o una secuencia definida en las Tablas 5A y 5C.

En una realización específica, el anticuerpo y el agente terapéutico/farmacológico están conjugados por medio de uno o más conectores. En otra realización específica, el anticuerpo y el agente terapéutico/farmacológico están conjugados directamente.

En realizaciones específicas, ejemplos no limitantes de restos terapéuticos o restos farmacológicos para la conjugación con un anticuerpo descrito en la presente memoria incluyen calicheamicinas (por ejemplo, el complejo LL-E33288; por ejemplo, la gamma-calicheamicina; véase, por ejemplo, la patente estadounidense nº 4,970,198) y derivados de las mismas (por ejemplo, los derivados de la hidrazida de gamma calicheamicina), ozogamicinas, duocarmicinas y derivados de las mismas (por ejemplo, CC-1065 (NSC 298223), o un análogo aquiral de la duocarmicina (por ejemplo AS-1-145 o centanamicina)), taxanos y derivados de los mismos, y enedíinas y derivados de las mismas (véanse, por ejemplo, las publicaciones de solicitud de patente internacional PCT nº WO 2009/017394, WO 2010/062171, WO 2007/089149, WO 2011/021146, WO 2008/150261, WO 2006/031653, WO 2005/089809, WO 2005/089807 y WO 2005/089808). En una realización específica, un anticuerpo que está conjugado con tal resto terapéutico/farmacológico es aquel que comprende las CDR definidas en la Tabla 1 (por ejemplo, CDR1 VL, CDR2 VL y CDR3 VL que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, 21 y 22, respectivamente, y/o una región de cadena VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23, 24 y 25, respectivamente). En una realización específica, un anticuerpo que está conjugado con tal resto terapéutico/farmacológico es aquel que comprende una VL que comprende la SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10 o 12 o una secuencia definida en las Tablas 5B y 5D, y/o una VH que comprende la SEQ ID NO: 2, 3, 4, 5, 6 u 11 o una secuencia definida en las Tablas 5A y 5C. En una realización específica, el anticuerpo y el agente terapéutico están conjugados por medio de uno o más conectores. En otra realización específica, el anticuerpo y el agente terapéutico están conjugados directamente.

Ejemplos no limitantes de calicheamicinas adecuadas para la conjugación con un anticuerpo descrito en la presente memoria son dados a conocer, por ejemplo, en las patentes estadounidenses nº 4.671.958; 5.053.394; 5.037.651; 5.079.233; y 5.108.912; y en las publicaciones de solicitud de patente internacional PCT nº WO 2011/021146, WO 2008/150261, WO 2006/031653, WO 2005/089809, WO 2005/089807 y WO 2005/089808. En realizaciones particulares, estos compuestos pueden contener un metilsulfuro que reacciona con los tioles apropiados para formar disulfuros, y, al mismo tiempo, introduce un grupo funcional tal como una hidrazida u otro grupo funcional que pueda ser útil para conjugar la calicheamicina con un anticuerpo descrito en la presente memoria. En ciertas realizaciones, la estabilización del enlace disulfuro que está presente en conjugados de calicheamicina añadiendo sustituyentes de dimetilo puede producir un conjugado anticuerpo/fármaco mejorado. En realizaciones específicas, el derivado de calicheamicina es N-acetil gamma calicheamicina dimetil hidrazida o NAc-gamma DMH (CL-184,538), como uno de los derivados optimizados para la conjugación. Las patentes estadounidenses nº 5.606.040 y 5.770.710, por

ejemplo, describen análogos de disulfuro de la calicheamicina que pueden ser conjugados con un anticuerpo descrito en la presente memoria. En cierta realización, un resto (por ejemplo, calicheamicina o un derivado de la misma) es conjugado con un anticuerpo por un conector. En una realización particular, un resto (por ejemplo, calicheamicina o un derivado de la misma) es hidrolizado a partir de un conjugado anticuerpo-fármaco en el conector. En una realización, un resto (por ejemplo, calicheamicina o un derivado de la misma) es hidrolizado a partir de un conjugado de anticuerpo en el conector entre aproximadamente un pH de 3,0 y un pH de 4,0 durante 1-24 horas a una temperatura de 20 a 50°C, preferentemente 37°C.

En realizaciones específicas, ejemplos no limitantes de restos terapéuticos o restos farmacológicos para la conjugación con un anticuerpo descrito en la presente memoria incluyen pirrolobenzodiazepinas (PBD) y derivados de las mismas; por ejemplo, dímeros de PBD (por ejemplo, SJG-136 o SG2000), dímeros de PBD C2-insaturados, dímeros de pirrolobenzodiazepina portadores de sustituciones arílicas C2 (por ejemplo, SG2285), profármaco dimérico de PBD que se activa por hidrólisis (por ejemplo, SG2285), y polipirrol-PBD (por ejemplo, SG2274) (véanse, por ejemplo, las publicaciones de solicitud de patente internacional PCT n^{os} WO 2000/012507, WO 2007/039752, WO 2005/110423, WO 2005/085251 y WO 2005/040170, y la patente estadounidense n^o 7.612.062). En una realización específica, un anticuerpo que está conjugado con tal resto terapéutico/farmacológico es aquel que comprende las CDR definidas en la Tabla 1 (por ejemplo, CDR1 VL, CDR2 VL y CDR3 VL que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, 20 y 21, respectivamente, y/o una región de cadena VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, 17 y 18, respectivamente), o en la Tabla 2 o la Tabla 3. En una realización específica, un anticuerpo que está conjugado con tal resto terapéutico/farmacológico es aquel que comprende una VL que comprende la SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10 o 12 o una secuencia definida en las Tablas 5B y 5D, y/o una VH que comprende SEQ ID NO: 2, 3, 4, 5, 6 u 11 o una secuencia definida en las Tablas 5A y 5C. En una realización específica, el anticuerpo y el agente terapéutico están conjugados por medio de uno o más conectores.

Además, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede estar conjugado o fusionado de forma recombinante con un resto terapéutico o resto farmacológico que modifique una respuesta biológica dada. No se debe interpretar que los restos terapéuticos o restos farmacológicos estén limitados a agentes terapéuticos químicos clásicos. Por ejemplo, el resto farmacológico puede ser una proteína, un péptido o un polipéptido que posea una actividad biológica deseada. Tales proteínas pueden incluir, por ejemplo, una toxina tal como abrina, ricina A, exotosina pseudomonas, toxina del cólera o toxina de la difteria; una proteína tal como el factor de necrosis tumoral, el interferón γ , el interferón α , el factor de crecimiento nervioso, el factor de crecimiento derivado de plaquetas, el activador tisular del plasminógeno, un agente apoptótico —por ejemplo, TNF- γ , TNF- γ , AIM I (véase la publicación internacional n^o WO 97/33899)—, AIM II (véase la publicación internacional n^o WO 97/34911), el ligando Fas (Takahashi et al., 1994, *J. Immunol.*, 6:1567-1574), y VEGF (véase la publicación internacional n^o WO 99/23105), un agente anti angiogénico —por ejemplo, angiostatina, endostatina o un componente del sistema de coagulación (por ejemplo, un factor tisular); o un modificador de la respuesta biológica, tal como, por ejemplo, una linfocina (por ejemplo, interferón gamma, interleucina-1 ("IL-1"), interleucina-2 ("IL-2"), interleucina-5 ("IL-5"), interleucina-6 ("IL-6"), interleucina-7 ("IL-7"), interleucina 9 ("IL-9"), interleucina-10 ("IL-10"), interleucina-12 ("IL-12"), interleucina-15 ("IL-15"), interleucina-23 ("IL-23"), el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos ("GM-CSF"), y el factor estimulante de colonias de granulocitos ("G-CSF")), o un factor de crecimiento (por ejemplo, la hormona de crecimiento ("GH")), o un agente de coagulación (por ejemplo, calcio, vitamina K, factores tisulares, tales como, sin limitación, el factor de Hageman (factor XII), el quininógeno de alto peso molecular (HMWK), la precalicreína (PK), proteínas-factores II de coagulación (protrombina), factores V, XIIa, VIII, XIIIa, XI, XIa, IX, IXa, X, fosfolípidos y monómeros de fibrina.

En la presente memoria se proporcionan anticuerpos fusionados de forma recombinante o conjugados químicamente (conjugaciones covalentes o no covalentes) con un polipéptido o proteína heterólogo (o a un fragmento del mismo, preferentemente a un polipéptido de aproximadamente 10, aproximadamente 20, aproximadamente 30, aproximadamente 40, aproximadamente 50, aproximadamente 60, aproximadamente 70, aproximadamente 80, aproximadamente 90 o aproximadamente 100 aminoácidos) para generar proteínas de fusión. En particular, en la presente memoria se proporcionan proteínas de fusión que comprenden un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un fragmento Fab, un fragmento Fd, un fragmento Fv, un fragmento F(ab)₂, un dominio VH, una CDR VH, un dominio VL o una CDR VL) y un polipéptido, péptido o proteína heterólogo. En una realización, el polipéptido, péptido o proteína heterólogo al que está fusionado el anticuerpo es útil para dirigir el anticuerpo a un tipo particular de célula, tal como una célula que exprese KIT. Por ejemplo, un anticuerpo que se une inmunoespecíficamente a un receptor de la superficie de la célula expresado por un tipo particular de célula (por ejemplo, una célula inmunitaria) puede ser fusionado o conjugado con un anticuerpo modificado descrito en la presente memoria. En realizaciones específicas, el polipéptido o proteína heterólogo (o un fragmento del mismo) se une a una segunda diana (por ejemplo, una diana distinta de KIT) (véanse, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente internacional PCT n^o WO 2009/088805 y la publicación de solicitud de patente estadounidense n^o US 2009/0148905).

En la presente memoria se proporciona una proteína conjugada o de fusión que comprende cualquier anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, y un polipéptido heterólogo (por ejemplo, a polipéptido distinto de KIT). En una realización, una proteína conjugada o de fusión descrita en la

presente memoria comprende un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria, y un polipéptido heterólogo. En otra realización, una proteína conjugada o de fusión proporcionada en la presente memoria comprende un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria, y un polipéptido heterólogo. En otra realización, una proteína conjugada o de fusión descrita en la presente memoria comprende un dominio VH que tiene la secuencia de aminoácidos de uno cualquiera de los dominios VH de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria, y/o un dominio VL que tiene la secuencia de aminoácidos de uno cualquiera de los dominios VL de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria, y un polipéptido heterólogo. En otra realización, una proteína conjugada o de fusión descrita en la presente memoria comprende una o más CDR VH que tienen la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 16, 17 y 18 (véase, por ejemplo, la Tabla 1), o la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las CDR definidas en la Tabla 2 o 3, y un polipéptido heterólogo. En otra realización, una proteína conjugada o de fusión comprende una o más CDR VL que tienen la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las CDR VL de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria (por ejemplo, las CDR VL de la Tabla 1, las SEQ ID NOs: 19, 20 y 21, o las CDR VL de la Tabla 2 o la Tabla 3), y un polipéptido heterólogo. En otra realización, una proteína conjugada o de fusión descrita en la presente memoria comprende al menos un dominio VH y al menos un dominio VL de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria, y un polipéptido heterólogo. En otra realización, una proteína conjugada o de fusión descrita en la presente memoria comprende al menos un dominio VH y al menos un dominio VL que comprende la SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10 o 12 o una secuencia definida en las Tablas 5B y 5D, y/o un dominio VH que comprende la SEQ ID NO: 2, 3, 4, 5, 6 u 11 o una secuencia definida en las Tablas 5A y 5C, y un polipéptido heterólogo. En otra realización más, una proteína conjugada o de fusión descrita en la presente memoria comprende al menos una CDR VH y al menos una CDR VL de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria (por ejemplo, las CDR VL y las CDR VH de la Tabla 1 o de la Tabla 2 o de la Tabla 3), y un polipéptido heterólogo.

Además, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede ser conjugado con restos terapéuticos tales como iones metálicos radiactivos, tales como emisores de partículas alfa tales como ^{213}Bi o quelantes macrocíclicos útiles para conjugar radioiones metálicos, incluyendo, sin limitación, ^{131}In , ^{131}Lu , ^{131}Y , ^{131}Ho , ^{131}Sm , con polipéptidos. En ciertas realizaciones, el quelante macrocíclico es ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecan-N,N',N'',N'''-tetraacético (DOTA), que puede unirse al anticuerpo por medio de una molécula conectora. Tales moléculas conectoras son comúnmente conocidas en la técnica y están descritas en Denardo et al., 1998, *Clin Cancer Res.* 4(10):2483-90; Peterson et al., 1999, *Bioconjug. Chem.* 10(4):553-7; y Zimmerman et al., 1999, *Nucl. Med. Biol.* 26(8):943-50.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, está conjugado con una o más moléculas (por ejemplo, un resto terapéutico o farmacológico) directa o indirectamente por medio de una o más moléculas conectoras. En realizaciones particulares, un conector es un conector escindible por enzimas o un conector de disulfuro. En una realización específica, el conector escindible es escindible por medio de una enzima tal como una aminopeptidasa, una aminoesterasa, una dipeptidil carboxi peptidasa, o una proteasa de la cascada de coagulación de la sangre. En realizaciones particulares, un conector comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20 residuos de aminoácido. En ciertas realizaciones, un conector consiste en de 1 a 10 residuos de aminoácido, de 1 a 15 residuos de aminoácido, de 5 a 20 residuos de aminoácido, de 10 a 25 residuos de aminoácido, de 10 a 30 residuos de aminoácido, o de 10 a 50 residuos de aminoácido.

En ciertas realizaciones, hay un resto conjugado con un anticuerpo por medio de uno o más conectores. En una realización particular, un resto está hidrolizado del conjugado anticuerpo-fármaco en el conector. En una realización, un resto es hidrolizado del conjugado de anticuerpos en el conector entre aproximadamente un pH de 3,0 y un pH 4,0 durante aproximadamente 1-24 horas, y a una temperatura entre aproximadamente 20 y 50°C, preferentemente 37°C. En una realización específica, un conector es estable en el torrente sanguíneo, pero libera el resto conjugado una vez está dentro de las células seleccionadas como diana. En ciertas realizaciones, un resto es conjugado con un anticuerpo descrito en la presente memoria por medio de uno o más conectores que contienen triazol (véase, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2007/018431). Ejemplos no limitantes de conectores y espaciadores para su incorporación en conjugados anticuerpo-fármaco descritos en la presente memoria son dados a conocer en las publicaciones de solicitud de patente internacional PCT nºs WO 2007/018431, WO 2004/043493 y WO 2002/083180.

Además, los anticuerpos descritos en la presente memoria pueden ser fusionados con secuencias marcadoras, tales como un péptido, para facilitar su purificación. En realizaciones preferentes, la secuencia de aminoácidos marcadora es un péptido de hexa-histidina, tal como la etiqueta proporcionada en un vector pQE (QIAGEN, Inc.), entre otros, muchos de los cuales están disponibles comercialmente. Según se describe, por ejemplo, en Gentz et al., 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:821-824, la hexa-histidina permite una purificación conveniente de la proteína de fusión. Otras etiquetas peptídicas útiles para la purificación incluyen, sin limitación, la etiqueta de la hemaglutinina ("HA"), que corresponde a un epítipo derivado de la proteína hemaglutinina de la gripe (Wilson et al., 1984, *Cell* 37:767), y la etiqueta "FLAG".

Los métodos para fusionar o conjugar restos terapéuticos (incluyendo polipéptidos) con anticuerpos son bien conocidos; véanse, por ejemplo, Arnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", en *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld et al. (ed.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985);

Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", en *Controlled Drug Delivery* (2ª ed.), Robinson et al. (ed.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", en *Monoclonal Antibodies 84: Biological And Clinical Applications*, Pinchera et al. (ed.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", en *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin et al. (ed.), pp. 303-16 (Academic Press 1985), Thorpe et al., 1982, *Immunol. Rev.* 62:119-58; las patentes estadounidenses n^{os} 5.336.603, 5.622.929, 5.359.046, 5.349.053, 5.447.851, 5.723.125, 5.783.181, 5.908.626, 5.844.095 y 5.112.946; los documentos EP 307.434; EP 367.166; EP 394.827; las publicaciones PCT WO 91/06570, WO 96/04388, WO 96/22024, WO 97/34631 y WO 99/04813; Ashkenazi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88: 10535-10539, 1991; Traunecker et al., *Nature*, 331:84-86, 1988; Zheng et al., *J. Immunol.*, 154:5590-5600, 1995; Vil et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:11337-11341, 1992.

Se pueden generar proteínas de fusión, por ejemplo, mediante las técnicas de transposición de genes, transposición de motivos, transposición de exones y/o transposición de codones (denominadas colectivamente "transposición de ADN"). La transposición de ADN puede ser empleada para alterar las actividades de anticuerpos descritos en la presente memoria (por ejemplo, anticuerpos con afinidades mayores y tasas de disociación menores). Véanse, en general, las patentes estadounidenses n^{os} 5.605.793, 5.811.238, 5.830.721, 5.834.252 y 5.837.458; Patten et al., 1997, *Curr. Opin. Biotechnol.* 8:724-33; Harayama, 1998, *Trends Biotechnol.* 16(2):76-82; Hansson et al., 1999, *J. Mol. Biol.* 287:265-76; y Lorenzo y Blasco, 1998, *Biotechniques* 24(2):308-313. Los anticuerpos, o los anticuerpos codificados, pueden ser alterados sometiendo a mutagénesis aleatoria por una PCR propensa a errores, inserción aleatoria de nucleótidos u otros métodos antes de la recombinación. Un polinucleótido que codifica un anticuerpo descrito en la presente memoria puede ser recombinado con uno o más componentes, motivos, secciones, partes, dominios, fragmentos, etc. de una o más moléculas heterólogas.

Un anticuerpo descrito en la presente memoria también puede ser conjugado con un segundo anticuerpo para formar un anticuerpo heteroconjugado según se describe en la patente estadounidense n^o 4,676,980.

El resto terapéutico o fármaco conjugado o fusionado de forma recombinante con un anticuerpo descrito en la presente memoria que se une inmuno-específicamente a un antígeno de KIT puede ser escogido para lograr el o los efectos profilácticos o terapéuticos deseados; por ejemplo, reducir el tamaño o la carga de un tumor, reducir el desarrollo o la proliferación de células cancerosas o inducir la muerte de las células cancerosas. En ciertas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo modificado. Un clínico u otro personal médico deberían considerar lo siguiente cuando se decide sobre qué resto terapéutico o fármaco conjugar o fusionar de forma recombinante con un anticuerpo descrito en la presente memoria: la naturaleza de la enfermedad, la gravedad de la enfermedad y la condición del sujeto.

Los anticuerpos descritos en la presente memoria también se pueden unir a soportes sólidos, que son particularmente útiles para inmunoensayos o para la purificación del antígeno diana. Tales soportes incluyen, sin limitación, vidrio, celulosa, poli(acrilamida), nailon, poliestireno, cloruro de polivinilo o polipropileno.

En cierto aspecto, un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo es un conjugado de fármaco extracelular (ECD) que comprende un anticuerpo conectado a un fármaco, opcionalmente por un conector (véase, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente internacional PCT n^o WO 2011/031870). El fármaco puede actuar fuera de la célula y, así, no se requiere la internalización del conjugado. Después de que un ECD se une a una célula diana, el fármaco envía una señal al interior de la célula.

En una realización, el conector del ECD es un conector no escindible. Ejemplos de conectores no escindibles incluyen conectores que contienen cadenas de polietilenglicol o cadenas de polietileno que no son sensibles a ácidos o bases (tales como conectores que contienen hidrazona), no son sensibles a agentes reductores u oxidantes (tales como los que contienen enlaces disulfuro), y no son sensibles a enzimas que puedan encontrarse en las células o el aparato circulatorio. Ejemplos específicos de conectores no escindibles incluyen el conector SMCC (publicación de solicitud de patente estadounidense n^o 20090202536). Con fines ilustrativos, ejemplos de conectores escindibles incluyen conectores que contienen disulfuros no impedidos sensibles al glutatión, ésteres, secuencias de péptidos sensibles a las peptidasas, tales como catepsina o plasmina, hidrazonas sensibles al pH (véase *Bioconjugate Chem.*, 2010, 21 (1), pp. 5-13) y el conector no impedido de disulfuro SPP (publicación de solicitud de patente estadounidense n^o 20090202536).

En ciertos aspectos, un ECD comprende un fármaco o agente que es un glucósido cardíaco; por ejemplo, proscillaridina o una proscillaridina con potenciación de azúcar. En una realización, el agente está compuesto a partir de un glucósido cardíaco que anula un azúcar. En diversas realizaciones, el glucósido cardíaco es un compuesto identificado en la publicación PCT n^o WO 2010/017480 (PCT/US2009/053159).

5.2 Polinucleótidos

En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporcionan polinucleótidos que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) descrito en la presente memoria o un fragmento del mismo (por ejemplo, una región de cadena ligera variable y/o una región de cadena pesada variable) que se une inmuno-específicamente a un antígeno de KIT, y vectores; por ejemplo, vectores que

comprenden tales polinucleótidos para su expresión recombinante en células anfitrionas (por ejemplo, *E. coli* y células de mamífero). En la presente memoria se proporcionan polinucleótidos que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican cualquiera de los anticuerpos proporcionados en la presente memoria, así como vectores que comprenden tales secuencias de polinucleótidos —por ejemplo, vectores de expresión— para su expresión eficiente en células anfitrionas; por ejemplo, células de mamífero. En la presente memoria también se proporcionan polinucleótidos que codifican antígenos de KIT (por ejemplo, la SEQ ID NO: 14 o 15) para generar anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria.

Según se usa en la presente memoria, una molécula “aislada” de polinucleótidos o ácido nucleico es aquella que está separada de otras moléculas de ácido nucleico que están presentes en la fuente natural (por ejemplo, en un ser humano) de la molécula de ácido nucleico. Además, una molécula “aislada” de ácido nucleico, tal como una molécula de ADNc, puede estar sustancialmente libre de otro material celular, o caldo de cultivo, cuando es producida mediante técnicas recombinantes, o sustancialmente libre de precursores químicos u otros productos químicos cuando es sintetizada químicamente. El lenguaje “sustancialmente libre” incluye, por ejemplo, preparaciones de moléculas de polinucleótidos o ácido nucleico que tienen menos de aproximadamente 15%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% (en particular, menos de aproximadamente un 10%) de otro material; por ejemplo, material celular, caldo de cultivo, otras moléculas de ácido nucleico, precursores químicos y/u otros productos químicos. En una realización específica, una o varias moléculas de ácido nucleico que codifican un anticuerpo descrito en la presente memoria están aisladas o purificadas.

En aspectos particulares, en la presente memoria se proporcionan polinucleótidos que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican anticuerpos (por ejemplo, un anticuerpo humanizado) o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, la región D4 de KIT, por ejemplo, del KIT humano) y comprenden una secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria, así como anticuerpos que compite con tales anticuerpos para su unión a un polipéptido KIT (por ejemplo, en una manera dependiente de la dosis), o que se une al mismo epítipo que el de tales anticuerpos.

En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporcionan polinucleótidos que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera o la cadena pesada de un anticuerpo descrito en la presente memoria. Los polinucleótidos pueden comprender secuencias de nucleótidos que codifican una cadena ligera que comprende las FR VL y las CDR de anticuerpos descritos en la presente memoria (véanse, por ejemplo, las Tablas 1 y 5B). Los polinucleótidos pueden comprender secuencias de nucleótidos que codifican una cadena pesada que comprende las FR VH y las CDR de anticuerpos descritos en la presente memoria (véanse, por ejemplo, las Tablas 1 y 5A). En realizaciones específicas, un polinucleótido descrito en la presente memoria codifica una región de cadena VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, 8, 9 o 10. En realizaciones específicas, a polinucleótido descrito en la presente memoria codifica una región de cadena VH que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NOs: 2-6.

En realizaciones particulares, un polinucleótido descrito en la presente memoria codifica una región de cadena VL, comprendiendo el polinucleótido la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 27, 28, 29 o 30. En realizaciones particulares, un polinucleótido descrito en la presente memoria codifica una región de cadena VH, comprendiendo el polinucleótido la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 22, 23, 24, 25 o 26. En realizaciones particulares, un polinucleótido codifica un anticuerpo descrito en la presente memoria, comprendiendo el polinucleótido la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 28 que codifica una región L2 de la cadena VL y la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 24 que codifica una región H3 de la cadena VH. En realizaciones particulares, uno o más polinucleótidos comprenden la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 28 que codifica una región de cadena VL y la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 24 que codifica una región de cadena VH. En realizaciones particulares, un polinucleótido codifica un anticuerpo descrito en la presente memoria, comprendiendo el polinucleótido la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 27 que codifica una región L1 de cadena VL y la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 25 que codifica una región H4 de cadena VH. En realizaciones particulares, uno o más polinucleótidos comprenden la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 27 que codifica una región de cadena VL y la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 25 que codifica una región de cadena VH. En realizaciones particulares, un polinucleótido descrito en la presente memoria codifica una región de cadena VL, comprendiendo el polinucleótido una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 95% o al menos un 98% idéntica a la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 27, 28, 29 o 30. En realizaciones particulares, un polinucleótido descrito en la presente memoria codifica una región de cadena VH, comprendiendo el polinucleótido una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 95% o al menos un 98% idéntica a la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 22, 23, 24, 25 o 26.

En realizaciones particulares, en la presente memoria se proporcionan polinucleótidos que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo anti KIT que comprende una región de cadena VL que contiene, por ejemplo, FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4, que comprenden secuencias de aminoácidos descritas en la presente memoria (por ejemplo, véanse las Tablas 1, 5A-5B y 6A-6B). En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporcionan polinucleótidos que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo anti KIT que comprende una región de cadena VH que contiene, por ejemplo, FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-

FR4, que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria (por ejemplo, véanse las Tablas 1, 5A-5B y 6A-6B).

5 En ciertas realizaciones, un polinucleótido descrito en la presente memoria comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo proporcionado en la presente memoria que comprende una región de cadena ligera variable (VL) que comprende un aminoácido descrito en la presente memoria (véanse, por ejemplo, las Figuras 3A-3I), uniéndose el anticuerpo inmuno-específicamente a un polipéptido KIT; por ejemplo, un polipéptido KIT humano, por ejemplo, a una región D4 de KIT (por ejemplo, del KIT humano); por ejemplo, a la SEQ ID NO: 15.

10 En ciertas realizaciones, un polinucleótido descrito en la presente memoria comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo proporcionado en la presente memoria que comprende una región de cadena pesada variable (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria (véanse, por ejemplo, las Figuras 3A-3I), uniéndose el anticuerpo inmuno-específicamente a un polipéptido KIT; por ejemplo, a un polipéptido KIT humano; por ejemplo, a una región D4 de KIT (por ejemplo, del KIT humano); por ejemplo a la SEQ ID NO: 15.

15 En ciertos aspectos, un polinucleótido comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) descrito en la presente memoria que comprende una región de cadena VL que comprende una o más FR VL que tienen la secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria (por ejemplo, véanse las Tablas 5B y 5D), uniéndose el anticuerpo inmuno-específicamente a un polipéptido KIT; por ejemplo, a un polipéptido KIT humano; por ejemplo, a una región D4 de KIT (por ejemplo, del KIT humano); por ejemplo la SEQ ID NO: 15. En ciertos aspectos, un polinucleótido comprende una secuencia de nucleótidos que
20 codifica un anticuerpo descrito en la presente memoria que comprende una región de cadena VH que comprende una o más FR VH que tienen la secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria (por ejemplo, véanse las Tablas 5A y 5C), uniéndose el anticuerpo inmuno-específicamente a un polipéptido KIT; por ejemplo, a un polipéptido KIT humano; por ejemplo, a una región D4 de KIT (por ejemplo, del KIT humano); por ejemplo a la SEQ ID NO: 15.

25 En realizaciones específicas, un polinucleótido proporcionado en la presente memoria comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado) descrito en la presente memoria que comprende: regiones marco (por ejemplo, regiones marco del dominio VL y del dominio VH) que son regiones marco humanas, uniéndose el anticuerpo inmuno-específicamente a un polipéptido KIT, por ejemplo, a un polipéptido KIT humano; por ejemplo, a una región D4 de KIT (por ejemplo, del KIT humano); por ejemplo a la SEQ ID NO: 15).

30 En aspectos específicos, en la presente memoria se proporciona un polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo que comprende una cadena ligera y una cadena pesada; por ejemplo, una cadena ligera y una cadena pesada separadas. Con respecto a la cadena ligera, en una realización específica, un polinucleótido proporcionado en la presente memoria comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una
35 cadena ligera kappa. En otra realización específica, un polinucleótido proporcionado en la presente memoria comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera lambda. En otra realización específica adicional, un polinucleótido proporcionado en la presente memoria comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo descrito en la presente memoria que comprende una cadena ligera kappa humana o una cadena ligera lambda humana. En una realización particular, un polinucleótido proporcionado en la presente memoria comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, un polipéptido KIT que comprende una región D4 de KIT, por ejemplo KIT humano (por ejemplo, la SEQ ID NO: 15)), en el que el anticuerpo comprende una cadena ligera, y en el que la secuencia de aminoácidos de la región de cadena VL puede comprender cualquier secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria (por ejemplo, la SEQ ID NO: 7, 8, 9 o 10 o 12), y en el que la región constante de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de una región constante de cadena ligera
45 kappa humana. En una realización particular, la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12. En otra realización particular, un polinucleótido proporcionado en la presente memoria comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, un polipéptido KIT que comprende un polipéptido KIT que comprende una región D4 de KIT, por ejemplo KIT humano (por ejemplo, la SEQ ID NO: 15)), y comprende una
50 cadena ligera, en el que la secuencia de aminoácidos de la región de cadena VL puede comprender cualquier secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria (por ejemplo, la SEQ ID NO: 7, 8, 9 o 10 o 12), y en el que la región constante de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de una región constante de cadena ligera lambda humana. Las secuencias de regiones constantes humanas pueden ser, por ejemplo, las descritas en la patente estadounidense nº 5.693.780.

55 En una realización particular, un polinucleótido proporcionado en la presente memoria comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo descrito en la presente memoria, que se une inmuno-específicamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, un polipéptido KIT que comprende un polipéptido KIT que comprende una región D4 de KIT; por ejemplo KIT humano (por ejemplo, la SEQ ID NO: 15)), en el que el anticuerpo comprende una cadena pesada, en el que la secuencia de aminoácidos de la región de cadena VH puede comprender cualquier secuencia
60 de aminoácidos descrita en la presente memoria (por ejemplo, SEQ ID NO: 2, 3, 4, 5 o 6 u 11), y en el que la región

constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de una región constante de la cadena pesada gamma (γ) humana.

En otra realización específica adicional, un polinucleótido proporcionado en la presente memoria comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo), que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido KIT (por ejemplo, a una región D4 de KIT; por ejemplo, KIT humano), en el que el anticuerpo comprende una región de cadena VL y una región de cadena VH que comprende cualquier secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria, y en el que las regiones constantes comprenden las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de una IgG1 humana (por ejemplo, el isotipo a, z, o f) o una IgG4 humana.

En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan polinucleótidos que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo anti KIT, o un fragmento de unión a antígeno o un dominio del mismo, designado en la presente memoria; véanse, por ejemplo, las Tablas 1-6B y las Figuras 3A-3I; por ejemplo, los anticuerpos Hum1-Hum20.

En la presente memoria también se proporcionan polinucleótidos que codifican un anticuerpo anti KIT o un fragmento del mismo que están optimizados; por ejemplo, mediante optimización de codones/ARN, sustitución con secuencias señal heterólogas y eliminación de elementos de inestabilidad del ARNm. Pueden llevarse a cabo métodos para generar ácidos nucleicos optimizados que codifican un anticuerpo anti KIT o un fragmento del mismo (por ejemplo, una cadena ligera, una cadena pesada, un dominio VH o un dominio VL) para la expresión recombinante introduciendo cambios en codones y/o eliminando regiones inhibitoras en el ARNm adaptando en consecuencia los métodos de optimización descritos, por ejemplo, en las patentes estadounidenses n^{os} 5.965.726; 6.174.666; 6.291.664; 6.414.132 y 6.794.498. Por ejemplo, los sitios de empalme potencial y los elementos de inestabilidad (por ejemplo, elementos ricos en A/T o A/U) dentro del ARN pueden ser mutados sin alterar los aminoácidos codificados por las secuencias de ácidos nucleicos para aumentar la estabilidad del ARN para una expresión recombinante. Las alteraciones utilizan la degeneración del código genético, usando, por ejemplo, un codón alternativo para un aminoácido idéntico. En algunas realizaciones, puede ser deseable alterar uno o más codones para codificar una mutación conservadora; por ejemplo, un aminoácido similar con estructura química y propiedades y/o función similares al aminoácido original. Tales métodos pueden aumentar la expresión de un anticuerpo anti KIT o de un fragmento del mismo en al menos 1 vez, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces o más con respecto a la expresión de un anticuerpo anti KIT codificado por polinucleótidos que no han sido optimizados.

En ciertas realizaciones, una secuencia de polinucleótidos optimizada que codifica un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria o un fragmento del mismo (por ejemplo, un dominio VL y/o un dominio VH) puede hibridarse con un polinucleótido no codificante (por ejemplo, complementario) de una secuencia de polinucleótidos no optimizada que codifica un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria o un fragmento del mismo (por ejemplo, un dominio VL y/o un dominio VH). En realizaciones específicas, una secuencia de polinucleótidos optimizada que codifica un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria o un fragmento se hibrida en condiciones muy rigurosas con un polinucleótido no codificante de una secuencia de polinucleótidos no optimizada que codifica un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria o un fragmento del mismo. En una realización específica, una secuencia de nucleótidos optimizada que codifica un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria o un fragmento del mismo se hibrida en condiciones muy rigurosas, intermedias o de menor rigor, con un polinucleótido no codificante de una secuencia de nucleótidos no optimizada que codifica un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria o un fragmento del mismo. Se ha descrito información sobre condiciones de hibridación; véase, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente estadounidense n^o US 2005/0048549 (por ejemplo, los párrafos 72-73).

En ciertas realizaciones, una secuencia de polinucleótidos optimizada que codifica una región VL de un anticuerpo descrito en la presente memoria es al menos un 75%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 98% idéntica a la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 27, 28, 29 o 30. En ciertas realizaciones, una secuencia de polinucleótidos optimizada que codifica una región VH de un anticuerpo descrito en la presente memoria es al menos un 75%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 98% idéntica a la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 22, 23, 24, 25 o 26.

Los polinucleótidos pueden ser obtenidos, y la secuencia de nucleótidos de los polinucleótidos ser determinada, por cualquier método conocido en la técnica. Las secuencias de nucleótidos que codifican anticuerpos descritos en la presente memoria —por ejemplo, los anticuerpos descritos en las Tablas 1-6B y en las Figuras 3A-3I, y versiones modificadas de estos anticuerpos— pueden ser determinadas usando métodos bien conocidos en la técnica; es decir, se ensamblan codones de nucleótidos que se sabe que codifican aminoácidos particulares de tal manera que generen un ácido nucleico que codifique el anticuerpo. Tal polinucleótido codificante del anticuerpo puede ser ensamblado a partir de oligonucleótidos sintetizados químicamente (por ejemplo, según se describe en Kutmeier et al., 1994, *BioTechniques* 17:242), lo que, sucintamente, implica la síntesis de oligonucleótidos superpuestos que contienen porciones de la secuencia que codifica el anticuerpo, la hibridación y la ligadura de esos oligonucleótidos, y luego la amplificación por PCR de los oligonucleótidos ligados.

Alternativamente, se puede generar un polinucleótido que codifica un anticuerpo descrito en la presente memoria a partir de ácido nucleico procedente de una fuente adecuada (por ejemplo, un hibridoma) usando métodos bien conocidos en la técnica (por ejemplo, PCR y otros métodos de clonación molecular). Por ejemplo, se puede llevar a cabo una amplificación por PCR usando cebadores sintéticos hibridables con los extremos 3' y 5' de una secuencia conocida usando ADN genómico obtenido de células de hibridoma que producen el anticuerpo de interés. Pueden usarse tales métodos de amplificación por PCR para obtener ácidos nucleicos que comprenden la secuencia que codifica la cadena ligera y/o la cadena pesada de un anticuerpo. Tales métodos de amplificación por PCR pueden ser usados para obtener ácidos nucleicos que comprenden la secuencia que codifica la región de cadena ligera variable y/o la región de cadena pesada variable de un anticuerpo. Los ácidos nucleicos amplificados pueden ser clonados formando vectores para su expresión en células anfitrionas y para clonación adicional; por ejemplo, para generar anticuerpos quiméricos y humanizados.

Si no hay disponible un clon que contenga un ácido nucleico que codifique un anticuerpo particular, pero la secuencia de la molécula del anticuerpo es conocida, puede sintetizarse u obtenerse químicamente un ácido nucleico que codifique la inmunoglobulina a partir de una fuente adecuada (por ejemplo, una biblioteca de ADNc de anticuerpos o; una biblioteca de ADNc generada de cualquier tejido o de células que expresen el anticuerpo, o de ácido nucleico, preferentemente poli A+ARN, aislado de los mismos, tales como células de hibridoma seleccionadas para expresar un anticuerpo descrito en la presente memoria) mediante amplificación por PCR usando cebadores sintéticos hibridables con los extremos 3' y 5' de la secuencia o mediante clonación usando una sonda de oligonucleótidos específica para la secuencia particular de genes para identificar, por ejemplo, un clon de ADNc de una biblioteca de ADNc que codifica el anticuerpo. A continuación, los ácidos nucleicos amplificados generados por PCR pueden ser clonados formando vectores duplicables de clonación usando cualquier método bien conocido en la técnica.

El ADN que codifica anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria puede ser fácilmente aislado y secuenciado usando procedimientos convencionales (por ejemplo, usando sondas de oligonucleótidos que sean capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas pesada y ligera de los anticuerpos anti KIT). Las células de hibridoma pueden servir de fuente de tal ADN. Una vez aislado, el ADN puede ser puesto en vectores de expresión, que luego son transfectados en células anfitrionas tales como células de *E. coli*, células COS simiescas, células de ovario de hámster chino (CHO) (por ejemplo, células CHO del CHO GS System™ (Lonza)), o células de mieloma que, en todo caso, no producen proteína inmunoglobulina, para obtener la síntesis de anticuerpos anti KIT en las células anfitrionas recombinantes.

Para generar anticuerpos completos, pueden usarse cebadores PCR que incluyan secuencias de nucleótidos VH o VL, un sitio de restricción y una secuencia flanqueante para proteger el sitio de restricción para amplificar las secuencias VH o VL en los clones de scFv. Utilizando técnicas de clonación conocidas para los expertos en la técnica, los dominios VH amplificados por PCR pueden ser clonados formando vectores que expresan una región constante de cadena pesada; por ejemplo, la región constante gamma 4 humana, y los dominios VL amplificados por PCR pueden ser clonados formando vectores que expresan una región constante de cadena ligera; por ejemplo, regiones constantes kappa o lambda humanas. En ciertas realizaciones, los vectores para la expresión de los dominios VH o VL comprenden un promotor EF-1 α , una señal de secreción, un sitio de clonación para el dominio variable, dominios constantes y un marcador de selección tal como la neomicina. Los dominios VH y VL también pueden ser clonados en un vector que exprese las regiones constantes necesarias. A continuación, se cotransfectan los vectores de conversión de cadena pesada y los vectores de conversión de cadena ligera en líneas celulares para generar líneas celulares estables o transitorias que expresen anticuerpos de longitud máxima —por ejemplo, IgG— usando técnicas conocidas para los expertos en la técnica.

El ADN también puede ser modificado, por ejemplo, sustituyendo los dominios constantes de las cadenas pesada y ligera humanas con la secuencia codificante en lugar de las secuencias murinas, o uniendo covalentemente a la secuencia codificante de inmunoglobulina la totalidad o parte de la secuencia codificante de un polipéptido no de inmunoglobulina.

También se proporcionan polinucleótidos que se hibridan en condiciones de hibridación de gran rigor, o de rigor intermedio o menor con polinucleótidos que codifican un anticuerpo descrito en la presente memoria. En realizaciones específicas, los polinucleótidos descritos en la presente memoria se hibridan en condiciones de hibridación de gran rigor, o de rigor intermedio o menor con polinucleótidos que codifican una región de cadena VH (por ejemplo, la SEQ ID NO: 2, 3, 4, 5 o 6) y/o una región de cadena VL (por ejemplo, la SEQ ID NO: 7, 8, 9 o 10) proporcionadas en la presente memoria. En realizaciones específicas, los polinucleótidos descritos en la presente memoria se hibridan en condiciones de hibridación de gran rigor o de rigor intermedio con polinucleótidos que son complementos de los polinucleótidos que codifican una región de cadena VH (por ejemplo, la SEQ ID NO: 3 o 5) y/o una región de cadena VL (por ejemplo, una SEQ ID NO: 2) proporcionadas en la presente memoria.

En realizaciones específicas, los polinucleótidos descritos en la presente memoria se hibridan en condiciones de hibridación de gran rigor, o de rigor intermedio o menor con polinucleótidos que son complementos de un polinucleótido que comprende la SEQ ID NO: 27, 28, 29 o 30 que codifica un dominio VL. En realizaciones específicas, los polinucleótidos descritos en la presente memoria se hibridan en condiciones de hibridación de gran

rigor o de rigor intermedio con polinucleótidos que son complementos de un polinucleótido que comprende la SEQ ID NO: 22, 23, 24, 25 o 26 que codifica un dominio VH.

En la técnica se han descrito, y son conocidas para un experto en la técnica, las condiciones de hibridación. Por ejemplo, la hibridación en condiciones rigurosas puede implicar la hibridación con ADN unido a un filtro en cloruro sódico/citrato sódico (SSC) 6× a aproximadamente 45°C seguida por uno o más lavados en 0,2×SSC/0,1% SDS a aproximadamente 50-65°C; la hibridación en condiciones sumamente rigurosas puede implicar la hibridación con ácido nucleico unido a un filtro en 6×SSC a aproximadamente 45°C seguida por uno o más lavados en 0,1×SSC/0,2% SDS a aproximadamente 68°C. La hibridación en otras condiciones rigurosas de hibridación es conocida para los expertos en la técnica y ha sido descrita; véase, por ejemplo, Ausubel, F.M. et al., ed., 1989, *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. I, Green Publishing Associates, Inc. y John Wiley & Sons, Inc., Nueva York en las páginas 6.3.1-6.3.6 y 2.10.3.

5.3 Células anfitrionas y expresión recombinante de anticuerpos

En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporcionan células anfitrionas que expresan de forma recombinante los anticuerpos descritos en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos) y vectores de expresión relacionados. En la presente memoria se proporcionan vectores (por ejemplo, vectores de expresión) que comprenden polinucleótidos que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican anticuerpos anti KIT o un fragmento para su expresión recombinante en células anfitrionas, preferentemente en células de mamífero. En la presente memoria también se proporcionan células anfitrionas que comprenden tales vectores para expresar de forma recombinante anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado). En un aspecto particular, en la presente memoria se proporcionan métodos para producir un anticuerpo descrito en la presente memoria, que comprende la expresión de tal anticuerpo a partir de una célula anfitriona.

La expresión recombinante de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo de longitud máxima, las cadenas pesada y/o ligera de un anticuerpo, o un anticuerpo monocatenario descritos en la presente memoria) que se une inmunoespecíficamente a un antígeno de KIT implica la construcción de un vector de expresión que contiene un polinucleótido que codifica el anticuerpo. Una vez que un polinucleótido que codifica una molécula de anticuerpo, unas cadenas pesada y/o ligera de un anticuerpo, o un fragmento del mismo (que contenga preferente, pero no necesariamente, el dominio variable de las cadenas pesada y/o ligera) descrito en la presente memoria ha sido obtenido, el vector para la producción de la molécula del anticuerpo puede ser producido mediante tecnología de ADN recombinante usando técnicas bien conocidas en la técnica. Así, en la presente memoria se describen métodos para preparar una proteína expresando un polinucleótido que contenga un anticuerpo que codifica una secuencia de nucleótidos. Pueden usarse métodos que son bien conocidos para los expertos en la técnica para construir vectores de expresión que contienen secuencias de codificación de anticuerpos y señales apropiadas de control transcripcional y de traducción. Estos métodos incluyen, por ejemplo, técnicas de ADN recombinante *in vitro*, técnicas sintéticas y recombinación genética *in vivo*. También se proporcionan vectores duplicables que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica una molécula de anticuerpo descrita en la presente memoria, una cadena pesada o ligera de un anticuerpo, un dominio variable de cadena pesada o ligera de un anticuerpo o un fragmento del mismo, o una CDR de cadena pesada o ligera, ligados operativamente a un promotor. Tales vectores pueden incluir, por ejemplo, la secuencia de nucleótidos que codifican la región constante de la molécula del anticuerpo (véanse, por ejemplo, las publicaciones internacionales n^{os} WO 86/05807 y WO 89/01036; y la patente estadounidense n^o 5.122.464) y el dominio variable del anticuerpo puede ser clonado en tal vector para la expresión de toda la cadena pesada, de toda la cadena ligera o de las cadenas pesada y ligera enteras.

Un vector de expresión puede ser transferido a una célula (por ejemplo, una célula anfitriona) mediante técnicas convencionales, y las células resultantes pueden ser cultivadas a continuación mediante técnicas convencionales para producir un anticuerpo descrito en la presente memoria o un fragmento del mismo. Así, en la presente memoria se proporcionan células anfitrionas que contienen un polinucleótido que codifica un anticuerpo descrito en la presente memoria o fragmentos del mismo, o una cadena pesada o ligera del mismo, o un fragmento del mismo, o un anticuerpo monocatenario descrito en la presente memoria, ligado operativamente a un promotor para la expresión de tales secuencias en la célula anfitriona. En ciertas realizaciones, para la expresión de anticuerpos de doble cadena, los vectores que codifican tanto la cadena pesada como la ligera, individualmente, pueden ser coexpresados en la célula anfitriona para la expresión de toda la molécula de inmunoglobulina, según se detalla posteriormente. En ciertas realizaciones, una célula anfitriona contiene un vector que comprende un polinucleótido que codifica tanto la cadena pesada como la cadena ligera de un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento del mismo. En realizaciones específicas, una célula anfitriona contiene dos vectores diferentes: un primer vector que comprende un polinucleótido que codifica una cadena pesada de un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento del mismo, y un segundo vector que comprende un polinucleótido que codifica una cadena ligera de un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento del mismo. En otras realizaciones, una primera célula anfitriona comprende un primer vector que comprende un polinucleótido que codifica una cadena pesada de un anticuerpo descrito en la presente memoria, o un fragmento del mismo, y una segunda célula

anfitriona comprende un segundo vector que comprende un polinucleótido que codifica una cadena ligera de un anticuerpo descrito en la presente memoria.

Pueden utilizarse diversos sistemas de vectores de anfitrión-expresión para expresar moléculas de anticuerpos descritas en la presente memoria (véase, por ejemplo, la patente estadounidense nº 5.807.715). Tales sistemas de vectores de anfitrión-expresión representan vehículos mediante los cuales pueden producirse y, subsiguientemente, purificarse las secuencias codificantes de interés, pero también representan células que pueden expresar *in situ*, cuando son transformadas o transfectadas con las secuencias apropiadas de codificación de nucleótidos, una molécula de anticuerpo, descrita en la presente memoria. Estas incluyen, sin limitación, microorganismos tales como bacterias (por ejemplo, *E. coli* y *B. subtilis*) transformadas con vectores de expresión de ADN bacteriófago recombinante, ADN plasmídico o ADN cosmídico que contienen secuencias codificantes de anticuerpos; levadura (por ejemplo, *Saccharomyces Pichia*) transformada con vectores de expresión de levadura recombinante que contienen secuencias codificantes de anticuerpos; sistemas celulares de insectos infectados con vectores de expresión de virus recombinantes (por ejemplo, baculovirus) que contienen secuencias codificantes de anticuerpos; sistemas de células vegetales (por ejemplo, algas verdes tales como *Chlamydomonas reinhardtii*) infectados con vectores de expresión de virus recombinantes (por ejemplo, el virus del mosaico de la coliflor, CaMV; el virus del mosaico del tabaco, TMV) o transformados con vectores de expresión plasmídicos recombinantes (por ejemplo, el plásmido Ti) que contienen secuencias codificantes de anticuerpos; o sistemas de células de mamífero (por ejemplo, células COS, CHO, BHK, MDCK, HEK 293, NS0, PER.C6, VERO, CRL7030, HsS78Bst, HeLa y NIH 3T3) que albergan constructos de expresión recombinantes que contienen promotores derivados del genoma de células de mamífero (por ejemplo, el promotor metalotioneína) o de virus de mamífero (por ejemplo, el promotor tardío de adenovirus; el promotor 7.5K del vaccinia virus). En una realización específica, las células para expresar anticuerpos descritos en la presente memoria (por ejemplo, Hum1-Hum20) o un fragmento de unión a antígeno de los mismos son células CHO; por ejemplo, células CHO del CHO GS System™ (Lonza). En una realización específica, un vector de expresión en mamíferos es pOptiVEC™ o pcDNA3.3. Preferentemente, se usan células bacterianas tales como *Escherichia coli*, y, más preferentemente, células eucariotas, especialmente para la expresión de una molécula de anticuerpo recombinante completo para la expresión de una molécula de anticuerpo recombinante. Por ejemplo, células de mamífero tales como células de ovario de hámster chino (CHO), en unión con un vector tal como el elemento promotor del gen temprano intermedio principal del citomegalovirus humano es un sistema de expresión eficaz para anticuerpos (Foecking et al., 1986, *Gene* 45:101; y Cockett et al., 1990, *Bio/Technology* 8:2). En ciertas realizaciones, los anticuerpos descritos en la presente memoria son producidos por células CHO o células NS0. En una realización específica, la expresión de secuencias de nucleótidos que codifican anticuerpos descritos en la presente memoria que se unen inmuno-específicamente a un antígeno de KIT es regulada por un promotor constitutivo, un promotor inducible o un promotor específico a tejidos.

En sistemas bacterianos, se pueden seleccionar ventajosamente varios vectores de expresión, dependiendo del uso previsto para la molécula del anticuerpo que se expresa. Por ejemplo, cuando ha de producirse una gran cantidad de tal anticuerpo, para la generación de composiciones farmacéuticas de una molécula de anticuerpo, pueden resultar deseables vectores que dirijan la expresión de altos niveles de productos proteínicos de fusión que sean fácilmente purificados. Tales vectores incluyen, sin limitación, el vector de expresión pUR278 de *E. coli* (Ruther et al., 1983, *EMBO* 12:1791), en el que la secuencia codificante del anticuerpo puede ser ligada individualmente en el vector en el marco con la región codificante lac Z para que se produzca una proteína de fusión; vectores pIN (Inouye e Inouye, 1985, *Nucleic Acids Res.* 13:3101-3109; Van Heeke y Schuster, 1989, *J. Biol. Chem.* 24:5503-5509); y similares. También se pueden usar vectores pGEX para expresar polipéptidos foráneos como proteínas de fusión con glutatión 5-transferasa (GST). En general, tales proteínas de fusión son solubles y pueden ser purificadas fácilmente a partir de células lisadas por adsorción y unión a perlas de agarosa de glutatión matricial seguido por elución en presencia de glutatión libre. Los vectores pGEX están diseñados para incluir sitios de escisión de proteasa de trombina o factor Xa para que se pueda liberar del resto GST el producto génico diana.

En un sistema de insectos, se usa el virus de la polihedrosis nuclear *Autographa californica* (AcNPV) como vector para expresar genes foráneos. El virus se desarrolla en células de *Spodoptera frugiperda*. La secuencia codificante del anticuerpo puede ser clonada individualmente en regiones no esenciales (por ejemplo el gen polihedrina) del virus y puesta bajo el control de un promotor AcNPV (por ejemplo el promotor polihedrina).

En células anfitrionas de mamífero, pueden utilizarse varios sistemas de expresión basados en virus. En casos en los que se usa un adenovirus como vector de expresión, la secuencia codificante del anticuerpo de interés puede estar ligada a un complejo de control de la transcripción/traducción de adenovirus; por ejemplo, el promotor tardío y la secuencia líder tripartita. El gen quimérico puede ser insertado entonces en el genoma de adenovirus mediante recombinación *in vitro* o *in vivo*. La inserción en una región no esencial del genoma vírico (por ejemplo, la región E1 o E3) dará lugar a un virus recombinante que es viable y capaz de expresar la molécula del anticuerpo en anfitriones infectados (véase, por ejemplo, Logan y Shenk, 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:355-359). También pueden requerirse señales de iniciación específicas para una traducción eficaz de las secuencias codificantes de anticuerpos insertadas. Estas incluyen el codón de iniciación de ATG y secuencias adyacentes. Además, el codón de iniciación debe estar en fase con el marco de lectura de la secuencia codificante deseada para garantizar la traducción del inserto completo. Estas señales exógenas de control de traducción y estos codones de iniciación pueden ser de diversos orígenes, tanto naturales como sintéticos. La eficacia de la expresión puede ser potenciada por la inclusión

de elementos apropiados potenciadores de la transcripción, terminadores de transcripción, etc. (véase, por ejemplo, Bittner et al., 1987, *Methods in Enzymol.* 153:51-544).

Además, puede elegirse una cepa de células anfitrionas que module la expresión de las secuencias insertadas, o modifique y procese el producto génico de la forma específica deseada. Tales modificaciones (por ejemplo, glucosilación) y tal procesamiento (por ejemplo, escisión) de productos proteínicos pueden ser importantes para la función de la proteína. Diferentes células anfitrionas tienen mecanismos característicos y específicos para el procesamiento y la modificación de proteínas y productos génicos con posterioridad a la traducción. Pueden escogerse líneas celulares o sistemas anfitriones apropiados para garantizar una modificación y un procesamiento correctos de la proteína foránea expresada. Con este fin, pueden usarse células anfitrionas eucariotas que poseen la maquinaria celular para el debido procesamiento del transcrito primario, la glucosilación y la fosforilación del producto génico. Tales células anfitrionas de mamífero incluyen, sin limitación, células CHO, VERO, BHK, Hela, COS, MDCK, HEK 293, NIH 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 y T47D, NS0 (una línea celular de mieloma murino que no produce de manera endógena ninguna cadena de inmunoglobulina), CRL7030 y HsS78Bst. En ciertas realizaciones, se producen en células de mamífero, tales como células CHO, anticuerpos monoclonales anti KIT humanizados descritos en la presente memoria.

Para una producción de alto rendimiento a largo plazo de proteínas recombinantes, se prefiere la expresión estable. Por ejemplo, se pueden diseñar líneas celulares que expresen de manera estable la molécula de anticuerpo. En vez de usar vectores de expresión que contienen los orígenes víricos de la duplicación, se pueden transformar células anfitrionas con ADN controlado por elementos apropiados de control de la expresión (por ejemplo, secuencias promotoras potenciadoras, terminadores de transcripción, sitios de poliadenilación, etc.), y un marcador seleccionable. Tras la introducción de ADN foráneo, se puede permitir que las células diseñadas se desarrollen durante 1-2 días en un caldo enriquecido, y luego se las pasa a un caldo selectivo. El marcador seleccionable en el plásmido recombinante confiere resistencia a la selección y permite que las células integren de manera estable el plásmido en sus cromosomas y que se desarrollen formando focos que, a su vez, pueden ser clonados y expandidos en líneas celulares. Este método puede ser usado ventajosamente para diseñar líneas celulares que expresen la molécula del anticuerpo. Tales líneas celulares diseñadas pueden ser particularmente útiles en la selección y la evaluación de composiciones que interactúen directa o indirectamente con la molécula del anticuerpo.

Pueden usarse varios sistemas de selección, incluyendo, sin limitación, genes de timidina quinasa del virus del herpes simple (Wigler et al., 1977, *Cell* 11:223), hipoxantinauanina fosforribosiltransferasa (Szybalska y Szybalski, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 48:202) y adenina fosforribosiltransferasa (Lowy et al., 1980, *Cell* 22:8-17) en células tk, hgprt o aprt, respectivamente. También puede usarse la resistencia antimetabolitos como base de selección de los siguientes genes: *dhfr*, que confiere resistencia al metotrexato (Wigler et al., 1980, *Natl. Acad. Sci. USA* 77:357; O'Hare et al., 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:1527); *gpt*, que confiere resistencia al ácido micofenólico (Mulligan y Berg, 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:2072); neo, que confiere resistencia al aminoglucósido G-418 (Wu y Wu, 1991, *Biotherapy* 3:87-95; Tolstoshev, 1993, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32:573-596; Mulligan, 1993, *Science* 260:926-932; y Morgan y Anderson, 1993, *Ann. Rev. Biochem.* 62:191-217; mayo de 1993, *TIB TECH* 11(5):155-2 15); e *hygro*, que confiere resistencia a la higromicina (Santerre et al., 1984, *Gene* 30:147). Los métodos comúnmente conocidos en la especialidad de la tecnología de ADN recombinante pueden ser aplicados de manera rutinaria para seleccionar el clon recombinante deseado, y tales métodos están descritos, por ejemplo, en Ausubel et al. (ed.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Nueva York (1993); Kriegler, *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, Stockton Press, Nueva York (1990); y en los capítulos 12 y 13 de Dracopoli et al. (eds.), *Current Protocols in Human Genetics*, John Wiley & Sons, Nueva York (1994); Colberre-Garapin et al., 1981, *J. Mol. Biol.* 150:1.

Los niveles de expresión de una molécula de anticuerpo pueden ser aumentados por amplificación de vectores (para una reseña, véase Bebbington y Hentschel, *The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning*, Vol. 3 (Academic Press, Nueva York, 1987)). Cuando un marcador en el anticuerpo que expresa el sistema vectorial es amplificable, el aumento en el nivel de inhibidor presente en el cultivo de la célula anfitriona aumentará el número de copias del gen marcador. Dado que la región amplificada está asociada con el gen del anticuerpo, también aumentará la producción del anticuerpo (Crouse et al., 1983, *Mol. Cell. Biol.* 3:257).

La célula anfitriona puede ser cotransfectada con dos o más vectores de expresión descritos en la presente memoria, codificando el primer vector un polipéptido derivado de la cadena pesada y codificando el segundo vector un polipéptido derivado de la cadena ligera. Los dos vectores pueden contener marcadores seleccionables idénticos que permitan una expresión igual de polipéptidos de las cadenas pesada y ligera. Las células anfitrionas pueden ser cotransfectadas con cantidades diferentes de dos o más vectores de expresión. Por ejemplo, las células anfitrionas pueden ser transfectadas con una cualquiera de las siguientes proporciones entre un primer vector de expresión y un segundo vector de expresión: 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:12, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:35, 1:40, 1:45 o 1:50.

Alternativamente, puede usarse un único vector que codifique y sea capaz de expresar polipéptidos tanto de la cadena pesada como de la ligera. En tales situaciones, la cadena ligera debería ser puesta antes de la cadena

pesada para evitar un exceso de cadena pesada libre tóxica (Proudfoot, 1986, *Nature* 322:52; y Kohler, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:2197-2199). Las secuencias codificantes para las cadenas pesada y ligera pueden comprender ADNc o ADN genómico. El vector de expresión puede ser monocistrónico o multicistrónico. Un constructo multicistrónico de ácidos nucleicos puede codificar 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más, o en el intervalo de 2-5, 5-10 o 10-20 genes/secuencias de nucleótidos. Por ejemplo, un constructo bicistrónico de ácidos nucleicos puede comprender, en el siguiente orden, un promotor, un primer gen (por ejemplo, la cadena pesada de un anticuerpo descrito en la presente memoria), y un segundo gen (por ejemplo, la cadena ligera de un anticuerpo descrito en la presente memoria). En tal vector de expresión, la transcripción de ambos genes puede ser impulsada por el promotor, mientras que la traducción del ARNm del primer gen puede ser un mecanismo de barrido dependiente del casquete y la traducción del ARNm del segundo gen puede ser un mecanismo de barrido independiente del casquete; por ejemplo, un IRES.

Una vez que una molécula de anticuerpo descrita en la presente memoria ha sido producida por expresión recombinante, puede ser purificada por cualquier método conocido en la técnica para la purificación de una molécula de inmunoglobulina; por ejemplo, por cromatografía (por ejemplo, cromatografía por intercambio iónico, afinidad, particularmente por afinidad hacia el antígeno específico después de la proteína A, y en columna de exclusión molecular), centrifugación, solubilidad diferencia o por cualquier otra técnica estándar para la purificación de proteínas. Además, los anticuerpos descritos en la presente memoria pueden fusionarse con secuencias de polipéptidos heterólogos descritas en la presente memoria o, si no, conocidas en la técnica para facilitar la purificación.

En realizaciones específicas, un anticuerpo descrito en la presente memoria es aislado o purificado. Generalmente, un anticuerpo aislado es aquel que está sustancialmente libre de otros anticuerpos con especificidades antigénicas diferentes de las del anticuerpo aislado. Por ejemplo, en una realización particular, una preparación de un anticuerpo descrito en la presente memoria está sustancialmente libre de material celular y/o de precursores químicos. El lenguaje "sustancialmente libre de material celular" incluye preparaciones de un anticuerpo en las cuales el anticuerpo está separado de los componentes celulares de las células de las cuales es aislado o producido de forma recombinante. Así, un anticuerpo que está sustancialmente libre de material celular incluye preparaciones de anticuerpo que tienen menos de aproximadamente 30%, 20%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% (en peso seco) de proteína heteróloga (también denominada "proteína contaminante" en la presente memoria) y/o variantes de un anticuerpo, por ejemplo, diferentes formas de un anticuerpo modificadas después de la traducción u otras versiones diferentes de un anticuerpo (por ejemplo, fragmentos de anticuerpos). Cuando el anticuerpo es producido de forma recombinante, generalmente también está sustancialmente libre de caldo de cultivo; es decir, el caldo de cultivo representa menos de aproximadamente un 20%, 10%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% del volumen de la preparación proteínica. Cuando el anticuerpo es producido por síntesis química, generalmente está sustancialmente libre de precursores químicos u otros productos químicos; es decir, está separado de precursores químicos u otros productos químicos que están implicados en la síntesis de la proteína. En consecuencia, tales preparaciones del anticuerpo tienen menos de aproximadamente un 30%, 20%, 10% o 5% (en peso seco) de precursores químicos o de compuestos distintos del anticuerpo de interés. En una realización específica, anticuerpos descritos en la presente memoria están aislados o purificados.

5.4 Métodos de producción de anticuerpos

Los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos humanos o humanizados) descritos en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos) que se unen inmuno específicamente a un antígeno de KIT pueden ser producidos por cualquier método conocido en la técnica para la síntesis de anticuerpos; por ejemplo, por síntesis química o por técnicas de expresión recombinante. Los métodos descritos en la presente memoria emplean, a no ser que se indique algo distinto, técnicas convencionales en biología molecular, microbiología, análisis genético, ADN recombinante, química orgánica, bioquímica, PCR, síntesis y modificación de oligonucleótidos, hibridación de ácidos nucleicos y campos relacionados dentro del dominio de la técnica. Estas técnicas están descritas en las referencias citadas en la presente memoria y están plenamente explicadas en la bibliografía. Véanse, por ejemplo, Maniatis et al. (1982) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook et al. (1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook et al. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York; Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1987 y actualizaciones anuales); *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons (1987 y actualizaciones anuales) Gait (ed.) (1984) *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press; Eckstein (ed.) (1991) *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, IRL Press; Birren et al. (eds.) (1999) *Genome Analysis: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Por ejemplo, pueden producirse anticuerpos humanizados usando diversas técnicas conocidas en la técnica, incluyendo, sin limitación, el injerto de CDR (patente europea nº EP 239.400; publicación internacional nº WO 91/09967; y las patentes estadounidenses nºs 5.225.539, 5.530.101 y 5.585.089), recubrimiento o reafloramiento (patentes europeas nºs EP 592.106 y EP 519.596; Padlan, 1991, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498; Studnicka et al., 1994, *Protein Engineering* 7(6):805-814; y Roguska et al., 1994, *PNAS* 91:969-973), transposición de cadenas (patente estadounidense nº 5.565.332), y técnicas dadas a conocer, por ejemplo, en la patente estadounidense nº

6.407.213, la patente estadounidense nº 5.766.886, el documento WO 9317105, Tan et al., *J. Immunol.* 169:1119-25 (2002), Caldas et al., *Protein Eng.* 13(5):353-60 (2000), Morea et al., *Methods* 20(3):267-79 (2000), Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272(16):10678-84 (1997), Roguska et al., *Protein Eng.* 9(10):895-904 (1996), Couto et al., *Cancer Res.* 55 (23 Sup):5973s-5977s (1995), Couto et al., *Cancer Res.* 55(8):1717-22 (1995), Sandhu JS, *Gene* 150(2):409-10 (1994), y Pedersen et al., *J. Mol. Biol.* 235(3):959-73 (1994). Véase también la publicación de patente estadounidense nº US 2005/0042664 A1 (24 de febrero de 2005).

En aspectos específicos, un anticuerpo humanizado es capaz de unirse a un antígeno predeterminado y que comprende una región marco, que tiene sustancialmente la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina humana, y las CDR, que tienen sustancialmente la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina no humana (por ejemplo, una inmunoglobulina murina). En realizaciones particulares, un anticuerpo humanizado también comprende al menos una porción de una región constante (Fc) de inmunoglobulina, normalmente la de una inmunoglobulina humana. El anticuerpo también puede incluir las regiones CH1, bisagra, CH2, CH3 y CH4 de la cadena pesada. Un anticuerpo humanizado puede ser seleccionado de cualquier caso de inmunoglobulinas, incluyendo IgM, IgG, IgD, IgA e IgE, y de cualquier isotipo, incluyendo IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄.

Se pueden preparar anticuerpos monoclonales usando una amplia variedad de técnicas conocidas en la especialidad, incluyendo el uso de tecnologías de hibridoma, recombinantes y de expresión de fagos, o una combinación de las mismas. Por ejemplo, pueden producirse anticuerpos monoclonales usando técnicas de hibridoma, incluyendo las conocidas en la técnica y enseñadas, por ejemplo, en Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª ed. 1988); Hammerling et al., in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, Nueva York, 1981). La expresión "anticuerpo monoclonal", según es usada en la presente memoria, no está limitada a anticuerpos producidos a través de la tecnología de hibridomas. Por ejemplo, pueden producirse anticuerpos monoclonales mediante tecnología recombinante; por ejemplo, anticuerpos recombinantes monoclonales expresados por una célula anfitriona, tal como una célula anfitriona de mamífero.

Los métodos para producir y seleccionar anticuerpos específicos usando tecnología de hibridomas son rutinarios y bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, en el método del hibridoma, se vacuna a un ratón o a otro animal anfitrión apropiado, tal como una oveja, una cabra, un conejo, una rata, un hámster o un mono macaco, para suscitar linfocitos que produzcan o sean capaces de producir anticuerpos que se unan específicamente a la proteína (por ejemplo, una región D4 del KIT humano) usada para la vacunación. Alternativamente, los linfocitos pueden ser inmunizados *in vitro*. A continuación, los linfocitos se fusionan con células de mieloma usando un agente de fusión adecuado, tal como polietilenglicol, para formar una célula de hibridoma (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)). Además, puede usarse una técnica de RIMMS (sitios múltiples de inmunización repetitiva) para inmunizar a un animal (Kilpatrick et al., 1997 *Hybridoma* 16:381-9).

Ejemplos no limitantes de líneas celulares de mieloma incluyen líneas de mieloma murino, tales como las derivadas de los tumores de ratón MOPC-21 y MPC-11 disponibles en el Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California, EE. UU., y células SP-2 o X63-Ag8.653 disponibles en la Colección Estadounidense de Cultivos Tipo, Rockville, Maryland, EE. UU. También se han descrito líneas celulares de mieloma humano y de heteromieloma de ratón-humano para la producción de anticuerpos humanos monoclonales (Kozbor, *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1987)).

Los anticuerpos descritos en la presente memoria incluyen fragmentos de anticuerpos que reconocen antígenos específicos de KIT y pueden ser generados mediante cualquier técnica conocida para los expertos en la técnica. Por ejemplo, los fragmentos Fab y F(ab')₂ descritos en la presente memoria pueden ser producidos mediante la escisión proteolítica de moléculas de inmunoglobulina, usando enzimas tales como papaína (para producir fragmentos Fab) o pepsina (para producir fragmentos F(ab')₂). Un fragmento Fab corresponde a uno de los dos brazos idénticos de una molécula de anticuerpo y contiene la cadena ligera completa emparejada con los dominios VH y CH1 de la cadena pesada. Un fragmento F(ab')₂ contiene los dos brazos de unión al antígeno de una molécula de anticuerpo ligados por enlaces disulfuro en la región bisagra.

En un aspecto, para generar anticuerpos completos, pueden usarse cebadores de PCR, incluyendo secuencias de nucleótidos VH o VL, un sitio de restricción y una secuencia flanqueante para proteger el sitio de restricción para amplificar las secuencias VH o VL de una plantilla; por ejemplo, clones scFv. Utilizando técnicas de clonación conocidas para los expertos en la técnica, los dominios VH amplificados por PCR pueden ser clonados en vectores que expresan una región constante VH, y los dominios VL amplificados por PCR pueden ser clonados en vectores que expresan una región constante VL; por ejemplo, regiones constantes kappa o lambda humanas. Los dominios VH y VL también pueden ser clonados en un vector que exprese las regiones constantes necesarias. A continuación, los vectores de la cadena pesada y los vectores de la cadena ligera son cotransfectados en líneas celulares para generar líneas celulares estables o transitorias que expresan anticuerpos de longitud máxima —por ejemplo, IgG— usando técnicas conocidas para los expertos en la técnica.

Pueden producirse anticuerpos de un solo dominio —por ejemplo, anticuerpos que carecen de las cadenas ligeras— mediante métodos bien conocidos en la técnica. Véanse Riechmann et al., 1999, *J. Immunol.* 231:25-38; Nuttall et

al., 2000, *Curr. Pharm. Biotechnol.* 1(3):253-263; Muylderman, 2001, *J. Biotechnol.* 74(4):277302; la patente estadounidense nº 6.005.079; y las publicaciones internacionales nº WO 94/04678, WO 94/25591 y WO 01/44301.

En ciertos aspectos, los anticuerpos descritos en la presente memoria, tales como anticuerpos heteroconjugados, anticuerpos monocatenarios, y anticuerpos biespecíficos, pueden ser producidos a través de tecnología recombinante conocida en la técnica. Por ejemplo, células anfitrionas de mamífero que comprenden vectores que expresan un anticuerpo descrito en la presente memoria son cultivadas en condiciones adecuadas para la producción de anticuerpos.

Además, los anticuerpos que se unen inmuno-específicamente a un antígeno de KIT pueden ser utilizados, a su vez, para generar anticuerpos antiidiotípicos que "imitan" un antígeno usando técnicas bien conocidas para los expertos en la técnica (véanse, por ejemplo, Greenspan y Bona, 1989, *FASEB J.* 7(5):437-444; y Nissinoff, 1991, *J. Immunol.* 147(8):2429-2438).

5.5 Composiciones farmacéuticas y equipos de reactivos

En la presente memoria se proporcionan composiciones, composiciones farmacéuticas, y equipos de reactivos que comprenden uno o más anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos humanizados) descritos en la presente memoria, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, o conjugados de los mismos. En aspectos particulares, las composiciones descritas en la presente memoria pueden ser para usos *in vitro*, *in vivo* o *ex vivo*. En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humanizado) descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Según se la usa en la presente memoria, la expresión "farmacéuticamente aceptable" significa estar autorizado por un organismo regulador del gobierno federal o estatal, o enumerado en la farmacopea estadounidense, la farmacopea europea u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales y, más en particular, en seres humanos.

Pueden prepararse formulaciones terapéuticas que contienen uno o más anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos humanizados) proporcionados en la presente memoria para su almacenamiento mezclando el anticuerpo que tiene el grado deseado de pureza con vehículos, excipientes o estabilizantes opcionales fisiológicamente aceptables (*Remington's Pharmaceutical Sciences* (1990) Mack Publishing Co., Easton, Pensilvania; *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 21ª ed. (2006) Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland), en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los vehículos, excipientes o estabilizantes aceptables son no tóxicos para los receptores en las dosis y las concentraciones empleadas e incluyen tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG).

Las formulaciones, tales como las descritas en la presente memoria, también pueden contener más de un compuesto activo (por ejemplo, moléculas; por ejemplo, un anticuerpo o anticuerpos descritos en la presente memoria), según sea necesario para la indicación particular que se esté tratando. En ciertas realizaciones, las formulaciones comprenden un anticuerpo proporcionado en la presente memoria y uno o más compuestos activos con actividades complementarias que no se afectan mutuamente de forma adversa. Tales moléculas están adecuadamente presentes en combinación en cantidades que son eficaces para el propósito previsto. Por ejemplo, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede combinarse con uno o más agentes terapéuticos adicionales (por ejemplo, un inhibidor de la tirosina quinasa tal como imatinib mesilado o sunitinib, o un inhibidor de la histona deacetilasa, tal como vorinostat). Tal terapia de combinación puede ser administrada al paciente en serie o simultáneamente o en secuencia.

Las formulaciones para ser usadas para la administración *in vivo* pueden ser estériles. Esto se logra fácilmente por filtración; por ejemplo, a través de membranas de filtración estériles.

En aspectos específicos, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria contienen cantidades terapéuticamente efectivas de uno o más de los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos humanizados) proporcionados en la presente memoria y, opcionalmente, uno o más agentes profilácticos o terapéuticos, en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Tales composiciones farmacéuticas son útiles en la prevención, el tratamiento, la gestión o la mejora de un trastorno o enfermedad asociado con KIT, tal como cáncer (por ejemplo, GIST) o una enfermedad inflamatoria intestinal o uno o más de los síntomas de los mismos.

Los vehículos farmacéuticos adecuados para la administración de los anticuerpos proporcionados en la presente memoria incluyen cualquier vehículo de ese tipo que los expertos en la técnica saben que es adecuado para el modo particular de administración.

Además, los anticuerpos descritos en la presente memoria pueden ser formulados como el único ingrediente farmacéuticamente activo en la composición o pueden ser combinados con otros ingredientes activos (tales como uno o más agentes profilácticos o terapéuticos adicionales).

Las composiciones pueden contener uno o más anticuerpos proporcionados en la presente memoria. En una realización, los anticuerpos están formulados en preparaciones farmacéuticas adecuadas, tales como soluciones, suspensiones, comprimidos, comprimidos dispersables, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida o elixires, para la administración oral, o en soluciones o suspensiones estériles para la administración parenteral, así como una preparación para parches transdérmicos y en inhaladores de polvo seco.

En las composiciones, uno o más anticuerpos proporcionados en la presente memoria (o conjugados de los mismos) son mezclados con un vehículo farmacéutico adecuado. Las concentraciones del anticuerpo o de los anticuerpos en las composiciones pueden ser efectivas, por ejemplo, para la distribución de una cantidad, tras su administración, que trata, previene o mejora un trastorno o enfermedad asociado con KIT o un síntoma del mismo. En realizaciones particulares, las concentraciones de un conjugado anticuerpo-fármaco o de conjugados anticuerpo-fármaco en las composiciones pueden ser eficaces, por ejemplo, para la distribución de una cantidad de uno o varios fármacos, tras su administración, que tratan, previenen o mejoran un trastorno o enfermedad asociado con KIT o un síntoma del mismo.

En una realización, las composiciones son formuladas para una administración en una única dosificación. Para formular una composición, la fracción de peso del compuesto es disuelta, suspendida, dispersada o mezclada de otra forma en un vehículo seleccionado en una concentración efectiva, de modo que se alivie o prevenga la condición tratada, o mejoren uno o más síntomas.

En ciertos aspectos, se incluye un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humanizado) proporcionado en la presente memoria (o un conjugado anticuerpo-fármaco del mismo) en el vehículo farmacéuticamente aceptable en una cantidad eficaz suficiente para ejercer un efecto terapéuticamente útil en ausencia efectos secundarios no deseados o con efectos secundarios mínimos o insignificantes en el paciente tratado. Una concentración terapéuticamente eficaz puede ser determinada empíricamente sometiendo a ensayo a los compuestos en sistemas *in vitro* e *in vivo* usando métodos rutinarios y luego extrapolando de ellos las dosis para seres humanos.

La concentración de anticuerpo en la composición farmacéutica dependerá, por ejemplo, de las características físico-químicas del anticuerpo, de la posología, de la cantidad administrada, así como de otros factores conocidos para los expertos en la técnica. En ciertos aspectos, la concentración de conjugado anticuerpo-fármaco en la composición farmacéutica dependerá, por ejemplo, de las características físico-químicas del anticuerpo y/o del fármaco, de la posología, de la cantidad administrada, así como de otros factores conocidos para los expertos en la técnica.

En una realización, una dosificación terapéuticamente efectiva produce una concentración sérica de anticuerpo entre aproximadamente 0,1 ng/ml y aproximadamente 50-100 µg/ml. Las composiciones farmacéuticas, en otra realización, proporcionan una dosificación entre aproximadamente 0,001 mg y aproximadamente 2000 mg de anticuerpo por kilogramo de peso corporal para la administración durante un periodo de tiempo; por ejemplo, cada día, cada semana, cada 2 semanas o cada 3 semanas. Pueden prepararse formas posológicas farmacéuticas unitarias para proporcionar entre aproximadamente 0,01 mg y aproximadamente 2000 mg, y en una realización entre aproximadamente 10 mg y aproximadamente 500 mg del anticuerpo y/o una combinación de otros ingredientes esenciales opcionales por forma posológica unitaria.

En una realización particular, se administra un conjugado anticuerpo-fármaco descrito en la presente memoria a una dosis efectiva de entre aproximadamente 1 y 100 mg de conjugado anticuerpo-fármaco por kilogramo de peso corporal para su administración durante un periodo de tiempo; por ejemplo, cada día, cada semana, cada 2 semanas o cada 3 semanas.

El anticuerpo puede ser administrado de una vez, o puede ser dividido en varias dosis menores para ser administrado a intervalos de tiempo. Se entiende que la dosificación y la duración precisas del tratamiento son una función de la enfermedad que está siendo tratada y que pueden ser determinadas empíricamente usando protocolos de prueba conocidos o mediante extrapolación de datos de ensayo *in vivo* o *in vitro*. Ha de hacerse notar que las concentraciones y los valores de dosificación también pueden variar con la gravedad de la afección que haya de paliarse. Ha de entenderse, además, que, para cualquier sujeto particular, pueden ajustarse posologías específicas con el paso del tiempo según la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los intervalos de concentración definidos en la presente memoria son únicamente ejemplares y que no se pretende que limiten el alcance o la puesta en práctica de las composiciones reivindicadas.

Tras la mezcla o la adición del anticuerpo, la mezcla resultante puede ser una solución, una suspensión, una emulsión o similares. La forma de la mezcla resultante depende de varios factores, incluyendo el modo previsto y la solubilidad del compuesto en el excipiente o vehículo seleccionado. La concentración efectiva es suficiente para paliar los síntomas del trastorno, enfermedad o afección tratado y puede ser determinada empíricamente.

Las composiciones farmacéuticas son proporcionadas para su administración a seres humanos y animales en formas posológicas unitarias, tales como soluciones parenterales (por ejemplo, intravenosas) estériles o suspensiones que contienen cantidades adecuadas de los compuestos o derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos. También se proporcionan composiciones farmacéuticas para su administración a seres humanos y

- animales en forma posológica unitaria, tales como comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos y soluciones o suspensiones orales, y emulsiones oleosas-acuosas que contienen cantidades adecuadas de los compuestos o derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos. En una realización, el anticuerpo está formulado y es administrado en formas posológicas unitarias o en formas posológicas múltiples. Las formas posológicas unitarias, según se usan en la presente memoria, se refieren a unidades físicamente diferenciadas adecuadas para sujetos humanos y animales y envasadas individualmente como se conoce en la técnica. Cada dosis unitaria contiene una cantidad predeterminada del anticuerpo suficiente para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente requerido. Ejemplos de formas posológicas unitarias incluyen ampollas y jeringas y comprimidos o cápsulas envasados individualmente. Las formas posológicas unitarias pueden ser administradas en fracciones o múltiplos de las mismas. Una forma posológica múltiple es una pluralidad de formas posológicas unitarias idénticas envasadas en un solo recipiente para ser administradas en forma posológica unitaria segregada. Ejemplos de formas posológicas múltiples incluyen viales, frascos de comprimidos o cápsulas o botellas de pintas o galones. Por ende, la forma posológica múltiple es un múltiplo de dosis unitarias que no está segregada en el envasado.
- En ciertas realizaciones, uno o más anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria se encuentran en una formulación farmacéutica líquida. Las composiciones líquidas administrables farmacéuticamente pueden prepararse, por ejemplo, disolviendo, dispersando o mezclando de otro modo un compuesto activo definido anteriormente y adyuvantes farmacéuticos opcionales en un vehículo, tal como, por ejemplo, agua, suero fisiológico, dextrosa acuosa, glicerol, glicoles, etanol y similares, para formar con ello una solución o una suspensión. Si se desea, la composición farmacéutica que ha de ser administrada también puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas tales como humectantes, emulsionantes, solubilizantes y tampones de pH y similares.
- Los métodos reales de preparación de tales formas posológicas son conocidos, o serán evidentes, para los expertos en esta técnica; véanse, por ejemplo, *Remington's Pharmaceutical Sciences* (1990) Mack Publishing Co., Easton, Pensilvania; *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 21^a ed. (2006) Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland.
- Pueden prepararse formas posológicas o composiciones que contienen anticuerpo en el intervalo del 0,005% al 100%, estando constituido el resto por un vehículo no tóxico. Los expertos en la técnica conocen métodos para la preparación de estas composiciones.
- En la presente memoria también se contempla la administración parenteral, en una realización, que se caracteriza por la inyección, ya sea de forma subcutánea, intramuscular o intravenosa. Los inyectables pueden prepararse de formas convencionales, ya sea como soluciones o suspensiones líquidas, en formas sólidas para su solución o suspensión en líquido antes de la inyección, o como emulsiones. Los inyectables, las soluciones y las emulsiones también contienen uno o más excipientes. Excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, suero fisiológico, dextrosa, glicerol o etanol. Además, si se desea, las composiciones farmacéuticas que han de ser administradas también pueden contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas tales como humectantes o emulsionantes, tampones de pH, estabilizantes, potenciadores de la solubilidad y otros agentes de ese tipo. Otras vías de administración pueden incluir la administración entérica, la administración intracerebral, la administración nasal, la administración intraarterial, la administración intracardiaca, la perfusión intraósea, la administración intratecal y la administración intraperitoneal.
- Las preparaciones para administración parenteral incluyen soluciones estériles listas para su inyección, productos solubles secos estériles, tales como polvos liofilizados, listos para ser combinados con un disolvente inmediatamente antes de su uso, incluyendo comprimidos hipodérmicos, suspensiones estériles listas para su inyección productos insolubles secos estériles listos para ser combinados con un vehículo inmediatamente antes de su uso y emulsiones estériles. Las soluciones pueden ser acuosas o no acuosas.
- Si son administrados de forma intravenosa, los vehículos adecuados incluyen suero fisiológico o suero fisiológico con tampón fosfato (PBS) y soluciones que contienen espesantes y solubilizantes, tales como glucosa, polietilenglicol y polipropilenglicol y mezclas de los mismos.
- Los vehículos farmacéuticamente aceptables usados en preparaciones parenterales incluyen vehículos acuosos, vehículos no acuosos, agentes antimicrobianos, agentes isotónicos, tampones, antioxidantes, anestésicos locales, agentes de suspensión y dispersantes, emulsionantes, inhibidores o quelantes y otras sustancias farmacéuticamente aceptables.
- Los vehículos farmacéuticos también incluyen alcohol etílico, polietilenglicol y propilenglicol para vehículos miscibles con agua; e hidróxido sódico, ácido clorhídrico, ácido cítrico o ácido láctico para el ajuste del pH.
- De manera ilustrativa, la perfusión intravenosa o intraarterial de una solución acuosa estéril que contiene un compuesto activo es un modo efectivo de administración. Otra realización es una solución o suspensión acuosa u oleosa estéril que contiene un material activo inyectado según sea necesario para producir el efecto farmacológico deseado.

El anticuerpo puede ser suspendido de forma micronizada o de otra forma adecuada. La forma de la mezcla resultante depende de varios factores, incluyendo el modo previsto de administración y la solubilidad del compuesto en el excipiente o vehículo seleccionado. La concentración efectiva es suficiente para paliar los síntomas de la afección y puede ser determinada empíricamente.

- 5 En otras realizaciones, las formulaciones farmacéuticas son polvos liofilizados, que pueden ser reconstituidos para su administración como soluciones, emulsiones y otras mezclas. También pueden ser reconstituidas y formuladas como sólidos o geles.

El polvo liofilizado se prepara disolviendo un anticuerpo proporcionado en la presente memoria en un disolvente adecuado. En algunas realizaciones, el polvo liofilizado es estéril. El disolvente puede contener un excipiente que mejora la estabilidad u otro componente farmacológico del polvo o de la solución reconstituida preparada a partir del polvo. Excipientes que pueden usarse incluyen, sin limitación, dextrosa, sorbitol, fructosa, jarabe de maíz, xilitol, glicerina, glucosa, sacarosa u otro agente adecuado. El disolvente también puede contener un tampón, tal como citrato, fosfato sódico o potásico u otro tampón de ese tipo conocido para los expertos en la técnica, en una realización, a aproximadamente un pH neutro. La filtración estéril subsiguiente de la solución, seguida por la liofilización en condiciones estándar conocidas para los expertos en la técnica proporciona la formulación deseada. En una realización, la solución resultante será distribuida en viales para su liofilización. Cada vial contendrá una sola dosis o múltiples dosis del compuesto. El polvo liofilizado puede ser almacenado en condiciones apropiadas, tales como entre aproximadamente 4°C y la temperatura ambiente.

La reconstitución de este polvo liofilizado con agua para su inyección proporciona una formulación para ser usada en la administración parenteral. Para su reconstitución, el polvo liofilizado es añadido a agua estéril o a otro vehículo adecuado. La cantidad precisa depende del compuesto seleccionado. Tal cantidad puede ser determinada empíricamente.

Los anticuerpos proporcionados en la presente memoria pueden ser formulados para una aplicación local o tópica, tal como para una aplicación tópica a la piel y las membranas mucosas, tal como en el ojo, en forma de geles, cremas y lociones, y para su aplicación al ojo o para una aplicación intracisternal o intraespinal. Se contempla la administración tópica para la administración transdérmica y también para la administración a los ojos o la mucosa, para terapias de inhalación. También se pueden administrar soluciones nasales del compuesto activo por sí solo o en combinación con otros excipientes farmacéuticamente aceptables.

Los anticuerpos y otras composiciones proporcionados en la presente memoria también pueden ser formulados para que seleccionen como diana un tejido, un receptor u otra área particular del cuerpo del sujeto que ha de ser tratado. Los expertos en la técnica conocen bien muchos métodos de direccionamiento de ese tipo. En la presente memoria están contemplados todos los métodos de direccionamiento de ese tipo para su uso en las presentes composiciones. Para ejemplos no limitantes de métodos de direccionamiento, véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses n^{os} 6.316.652, 6.274.552, 6.271.359, 6.253.872, 6.139.865, 6.131.570, 6.120.751, 6.071.495, 6.060.082, 6.048.736, 6.039.975, 6.004.534, 5.985.307, 5.972.366, 5.900.252, 5.840.674, 5.759.542 y 5.709.874. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria son dirigidos (o administrados de otra manera) a la médula ósea, tal como en un paciente que tenga leucemia o corra el riesgo de tenerla. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria son dirigidos (o administrados de otra manera) al tracto gastrointestinal, tal como en un paciente que tenga tumores estromales gastrointestinales o corra el riesgo de tenerlos. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria son dirigidos (o administrados de otra manera) a los pulmones, tal como en un paciente que tenga cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer microcítico de pulmón) o corra el riesgo de tenerlo. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria son dirigidos (o administrados de otra manera) al cerebro, tal como en un paciente que tenga neuroblastoma o corra el riesgo de tenerlo. En realizaciones específicas, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria es capaz de cruzar la barrera sangre-cerebro.

En la presente memoria se proporciona un estuche farmacéutico o equipo de reactivos que comprende uno o más recipientes llenos de uno o más de los ingredientes de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria, tales como uno o más anticuerpos proporcionados en la presente memoria. Opcionalmente asociada con tal recipiente o tales recipientes puede haber una nota en la forma recomendada por un organismo gubernamental regulando la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos o biológicos, nota que refleje la autorización por parte del organismo de la fabricación, el uso o la venta para la administración a seres humanos.

En la presente memoria también se proporcionan equipos de reactivos que pueden ser usados en los anteriores métodos. En una realización, un equipo de reactivos comprende un anticuerpo descrito en la presente memoria, preferentemente un anticuerpo purificado, en uno o más recipientes. En una realización específica, los equipos de reactivos descritos en la presente memoria contienen un antígeno de KIT sustancialmente aislado como control. En otra realización específica, los equipos de reactivos descritos en la presente memoria comprenden, además, un anticuerpo de control que no reacciona con el antígeno de KIT. En otra realización específica, los equipos de reactivos descritos en la presente memoria contienen uno o más elementos para detectar la unión de un anticuerpo modificado a un antígeno de KIT (por ejemplo, el anticuerpo puede ser conjugado con un sustrato detectable, tal como un compuesto fluorescente, un sustrato enzimático, un compuesto radiactivo o un compuesto luminiscente, o

un segundo anticuerpo que reconoce al primer anticuerpo puede ser conjugado con un sustrato detectable). En realizaciones específicas, el equipo de reactivos puede incluir un antígeno de KIT producido de forma recombinante o sintetizado químicamente. El antígeno de KIT proporcionado en el equipo de reactivos también puede estar unido a un soporte sólido. En una realización más específica, el medio de detección del equipo de reactivos anteriormente descrito incluye un soporte sólido al que está unido el antígeno de KIT. Tal equipo de reactivos también puede incluir un anticuerpo anti humano no unido marcado por indicador. En esta realización, la unión del anticuerpo al antígeno de KIT puede ser detectada por la unión de dicho anticuerpo marcado por indicador.

5.6 Métodos

En la presente memoria se proporcionan anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria para su uso en métodos para impedir, prevenir, tratar y/o gestionar un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer). Tales métodos comprenden administrar a un sujeto necesitado de ello una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria (por ejemplo, anticuerpos humanizados, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, o conjugados de los mismos). En ciertos aspectos, en la presente memoria también se proporcionan anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria para su uso en métodos para prevenir, impedir, tratar o gestionar uno o más síntomas de un trastorno o enfermedad asociado con KIT.

Según se usa en la presente memoria, “administrar” o “administración” se refiere al acto de inyectar o distribuir físicamente de otro modo una sustancia (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado proporcionado en la presente memoria o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo) a un sujeto o a un paciente (por ejemplo, humano), tal como por administración por las mucosas, tópica, intradérmica, intravenosa, intramuscular y/o por cualquier otro método de distribución física descrito en la presente memoria o conocido en la técnica.

Según se usa en la presente memoria, los términos “cantidad efectiva” o “cantidad terapéuticamente efectiva” se refieren a una cantidad de una terapia (por ejemplo, un anticuerpo humanizado o una composición farmacéutica proporcionada en la presente memoria) que es suficiente para reducir y/o paliar la gravedad y/o la duración de una enfermedad dada y/o un síntoma relacionado con la misma. Estos términos también abarcan una cantidad necesaria para la reducción o la mejoría en el avance o progreso de una enfermedad dada, la reducción o la mejoría de la recurrencia, el desarrollo o la aparición de una enfermedad dado, y/o para mejorar o potenciar el o los efectos profilácticos o terapéuticos de otra terapia (por ejemplo, una terapia distinta de un anticuerpo anti KIT proporcionada en la presente memoria). En algunas realizaciones, “cantidad efectiva”, tal como se usa en la presente memoria, también se refiere a la cantidad de un anticuerpo descrito en la presente memoria para lograr un resultado especificado (por ejemplo, la inhibición (por ejemplo, la inhibición parcial) de la actividad biológica KIT de una célula, tal como la inhibición de la proliferación celular o de la supervivencia celular, o la potenciación o la inducción de la apoptosis o la diferenciación celular).

Según se la usa en la presente memoria, la expresión “en combinación”, en el contexto de la administración de otras terapias, se refiere al uso de más de una terapia. El uso de la expresión “en combinación” no restringe el orden en el que se administran las terapias. Las terapias pueden ser administradas, por ejemplo, en serie, secuencial, concurrente o concomitantemente.

Según se usan en la presente memoria, los términos “gestionar”, “gestionando” y “gestión” se refieren a los efectos beneficiosos que un sujeto deriva de una terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico), que no da como resultado la curación de un trastorno o enfermedad asociado con KIT. En ciertas realizaciones, se administran a un sujeto una o más terapias (por ejemplo, agentes profilácticos o terapéuticos, tales como un anticuerpo descrito en la presente memoria) para “gestionar” una enfermedad asociada con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria o fibrosis) o uno o más síntomas de la misma, para prevenir el avance o en empeoramiento de la enfermedad.

Según se usan en la presente memoria, los términos “impedir” o “impidiendo”, en el contexto de un trastorno o enfermedad asociado con KIT, se refieren a la inhibición total o parcial (por ejemplo, menos del 100%, 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10% o 5%) o al bloqueo del desarrollo, la recurrencia, la aparición o la propagación de una enfermedad asociada con KIT y/o de un síntoma relacionado con la misma, resultante de la administración de una terapia o una combinación de terapias proporcionadas en la presente memoria (por ejemplo, una combinación de agentes profilácticos o terapéuticos, tales como un anticuerpo descrito en la presente memoria).

Según se la usa en la presente memoria, la expresión “agente profiláctico” se refiere a cualquier agente que pueda inhibir total o parcialmente el desarrollo, la recurrencia, la aparición o la propagación de una enfermedad asociada con KIT y/o un síntoma relacionado con la misma en un sujeto. En ciertas realizaciones, la expresión “agente profiláctico” se refiere a un anticuerpo descrito en la presente memoria. En ciertas otras realizaciones, la expresión “agente profiláctico” se refiere a un agente distinto de un anticuerpo descrito en la presente memoria. Generalmente, un agente profiláctico es un agente que se sabe que es útil o que ha sido o es usado en la actualidad para prevenir una enfermedad asociada con KIT y/o un síntoma relacionado con la misma o impide la aparición, el desarrollo, el avance y/o la gravedad de una enfermedad asociada con KIT y/o un síntoma relacionado con la misma. En realizaciones específicas, el agente profiláctico es un anticuerpo anti KIT humano, tal como un anticuerpo monoclonal anti-KIT humanizado o plenamente humano.

Según se la usa en la presente memoria, la expresión “efectos secundarios” abarca efectos no queridos y adversos de una terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico). Los efectos no queridos no son necesariamente adversos. Un efecto adverso de una terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico) puede ser dañino o incómodo o suponer un riesgo. Ejemplos de efectos secundarios incluyen diarrea tos, gastroenteritis, sibilancia, náusea, vómito, anorexia, calambres abdominales, fiebre, dolor, pérdida de peso corporal, deshidratación, alopecia, disnea, insomnio, mareo, mucositis, efectos nerviosos y musculares, fatiga, sequedad de boca y pérdida del apetito, sarpullidos o hinchazones en el sitio de administración, síntomas de tipo gripal, tales como fiebre, escalofríos y fatiga, problemas del tracto digestivo y reacciones alérgicas. Los efectos no deseados adicionales experimentados por los pacientes son numerosos y conocidos en la técnica. Muchos están descritos en la obra *Physician's Desk Reference* (63ª ed., 2009).

Según se usan en la presente memoria, los términos “sujeto” y “paciente” son usados de manera intercambiable. Según se usa en la presente memoria, un sujeto es, preferentemente, un mamífero, tal como un no primate (por ejemplo, vacas, cerdos, caballos, gatos, perros, cabras, conejos, ratas, ratones, etc.) o un primate (por ejemplo, un mono o un ser humano), siendo lo más preferible que sea un ser humano. En una realización, el sujeto es un mamífero, preferentemente un ser humano, que tiene un trastorno o enfermedad asociado con KIT. En otra realización, el sujeto es un mamífero, preferentemente un ser humano, con riesgo de desarrollar un trastorno o enfermedad asociado con KIT. En otra realización, el sujeto es un primate no humano. En una realización específica, el sujeto es un sujeto humano adulto de al menos 18 años de edad.

Según se usan en la presente memoria, los términos “terapias” y “terapia” pueden referirse a uno o varios protocolos, a uno o varios métodos, a composiciones, formulaciones, y/o a uno o varios agentes cualesquiera que pueden ser usados en la prevención, el tratamiento, la gestión o la mejoría de una afección o trastorno o síntoma de los mismos (por ejemplo, cáncer o uno o más síntomas o afecciones asociados con el mismo; afección inflamatoria o uno o más síntomas o afecciones asociados con la misma; fibrosis o uno o más síntomas o afecciones asociados con la misma). En ciertas realizaciones, los términos “terapias” y “terapia” se refieren a una terapia farmacológica, a una terapia adyuvante, a radiación, a cirugía, a una terapia biológica, a una terapia de apoyo y/o a otras terapias útiles en el tratamiento, la gestión, la prevención o la mejoría de una afección o trastorno o a uno o más síntomas del mismo (por ejemplo, cáncer o uno o más síntomas o afecciones asociados con el mismo; afección inflamatoria o uno o más síntomas o afecciones asociados con la misma; fibrosis o uno o más síntomas o afecciones asociados con la misma). En ciertas realizaciones, el término “terapia” se refiere a una terapia distinta de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria o de composiciones farmacéuticas del mismo. En realizaciones específicas, una “terapia adicional” y “terapias adicionales” se refieren a una terapia distinta de un tratamiento que use un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria o de una composición farmacéutica. En una realización específica, una terapia incluye el uso de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria como terapia adyuvante. Por ejemplo, el uso de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria junto con una terapia farmacológica, una terapia biológica, cirugía y/o una terapia de apoyo.

Según se la usa en la presente memoria, la expresión “agente terapéutico” se refiere a cualquier agente que pueda ser usado en el tratamiento, la gestión o la mejoría de una enfermedad asociada con KIT y/o de un síntoma relacionado con la misma. En ciertas realizaciones, la expresión “agente terapéutico” se refiere a un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria (por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20), a un fragmento de unión a antígeno del mismo, o a un conjugado del mismo. En ciertas otras realizaciones, la expresión “agente terapéutico” se refiere a un agente distinto de un anticuerpo descrito en la presente memoria. Preferentemente, un agente terapéutico es un agente que se sabe que es útil o que ha sido o es usado en la actualidad para el tratamiento, la gestión o la mejora de una enfermedad asociada con KIT o de uno o más síntomas relacionados con la misma. En realizaciones específicas, el agente profiláctico es un anticuerpo anti KIT humano, tal como un anticuerpo monoclonal anti-KIT plenamente humano.

Según se usan en la presente memoria, las expresiones “trastorno asociado con KIT” o “enfermedad asociada con KIT” son usadas de manera intercambiable y se refieren a cualquier enfermedad que esté causada completa o parcialmente por la expresión y/o la actividad de KIT o la ausencia de las mismas, o esté asociado con las mismas o sea el resultado de las mismas. En un aspecto, un trastorno o enfermedad asociado con KIT puede ser conocido para un experto en la técnica o puede ser constatado por un experto en la técnica. En cierta realización, un trastorno o enfermedad asociado con KIT está asociado con la expresión y/o la actividad de KIT. Por ejemplo, la expresión y/o la actividad de KIT puede contribuir, en combinación con uno o más factores adicionales (por ejemplo, la mutación o la expresión y/o la actividad de otro gen), al desarrollo y/o el avance de un trastorno o a enfermedad asociado con KIT. En cierta realización, un trastorno o a enfermedad asociado con KIT está asociado con una o más mutaciones de KIT.

En ciertas realizaciones, una enfermedad asociada con KIT es fibrosis o un trastorno inflamatorio; por ejemplo, una enfermedad inflamatoria intestinal (EII), tal como la enfermedad de Crohn (CD) o la colitis ulcerosa (UC). En otras realizaciones, una enfermedad asociada con KIT es cáncer, tal como cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer microcítico de pulmón), leucemia, neuroblastoma, melanoma, sarcoma (por ejemplo, el sarcoma de Ewing) o tumor estromal gastrointestinal (GIST).

Según se usan en la presente memoria, los términos “tratar”, “tratamiento” y “tratando” se refieren a la reducción o mejoría del avance, la gravedad y/o la duración de una enfermedad asociada con KIT (por ejemplo, cáncer, trastorno inflamatorio o fibrosis) resultante de la administración de una o más terapias (incluyendo, sin limitación, la administración de uno o más agentes profilácticos o terapéuticos, tales como un anticuerpo proporcionado en la presente memoria).

En realizaciones específicas, los métodos descritos en la presente memoria para tratar un trastorno o enfermedad asociado con KIT permiten la reducción o la mejoría del avance, la gravedad y/o la duración de un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria o fibrosis) resultante de la administración de una o más terapias (incluyendo, sin limitación, la administración de uno o más agentes profilácticos o terapéuticos, tales como un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria). En realizaciones específicas adicionales, los métodos descritos en la presente memoria para tratar un trastorno o enfermedad asociado con KIT están relacionados con la reducción de uno o más síntomas de un trastorno o enfermedad asociado con KIT. En realizaciones específicas, un anticuerpo descrito en la presente memoria —por ejemplo uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20; por ejemplo, el anticuerpo Hum8 o Hum4 o Hum17 o Hum10, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo— es para su uso en el tratamiento o la gestión de un trastorno asociado con KIT (por ejemplo, cáncer). En una realización particular, un trastorno o enfermedad asociado con KIT que está siendo tratada o gestionada con un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo, está asociado con la expresión y/o la actividad de KIT; por ejemplo, implica células que expresan el KIT y/o presentan la actividad del KIT, pero no es causado por la expresión o la actividad del KIT ni es el resultado de la misma.

En una realización particular, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado), por ejemplo uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, o Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo, para su uso en el tratamiento o la gestión de un trastorno asociado con KIT (por ejemplo, cáncer), en el que el anticuerpo comprende (i) una región de cadena VL que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, 8, 9 o 10, y/o (ii) una región de cadena VH que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, 3, 4, 5 o 6. En otra realización particular, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso en el tratamiento o la gestión de un trastorno asociado con KIT (por ejemplo, cáncer), en el que el anticuerpo comprende una combinación del dominio VH (por ejemplo, H1-H5, SEQ ID NOS: 2-6) y del dominio VL (L1-L4, SEQ ID NOS: 7-10) seleccionados del grupo presentado en la Tabla 4. En una realización particular, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tales como Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo, para su uso en el tratamiento o la gestión de un trastorno asociado con KIT (por ejemplo, cáncer), en el que el anticuerpo comprende (i) una región de cadena VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 (véase, por ejemplo, la Figura 4B), y/o (ii) una región de cadena VH que comprende la secuencia de aminoácidos de consenso de la SEQ ID NO: 11 (véase, por ejemplo, la Figura 4A). En una realización particular, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo, para su uso en el tratamiento o la gestión de un trastorno asociado con KIT (por ejemplo, cáncer), en el que el anticuerpo comprende (i) una región de cadena VL que comprende una secuencia de aminoácidos definida en la Tabla 6A (por ejemplo, L1-L4 y LL1-LL62), y/o (ii) una región de cadena VH que comprende la secuencia de aminoácidos definida en la Tabla 6B (por ejemplo, H1-H5 y HH1-HH256).

En una realización específica, el anticuerpo usado en los métodos descritos en la presente memoria es internalizado por la célula a la que se une. En una realización particular, se usa un conjugado en los métodos descritos en la presente memoria, comprendiendo el conjugado un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado, por ejemplo Hum4 o Hum8), o un fragmento de unión al KIT del mismo. En una realización específica, el conjugado comprende un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión al KIT del mismo, ligado, covalente o no covalentemente, a un agente terapéutico, tal como una toxina. En cierta realización, el conjugado usado en los métodos descritos en la presente memoria es internalizado en una célula a la que se une.

En ciertas realizaciones, el KIT es expresado por las células de forma aberrante (por ejemplo, mucho); por ejemplo, el KIT es sobreexpresado. En realizaciones particulares, la expresión del KIT (por ejemplo, en la superficie celular) es al menos aproximadamente 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% mayor que la expresión del KIT en la superficie de una célula de control (por ejemplo, una célula que exprese niveles normales de KIT; por ejemplo, un mastocito, una célula madre, una célula cerebral, un melanoblasto, o una célula ovárica normales, por ejemplo humanas). En realizaciones particulares, la expresión de KIT produce una expresión de KIT en la superficie celular al menos aproximadamente un 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% mayor que la expresión media de KIT en la superficie de una población de células de control (por ejemplo, una población de células que expresan niveles normales de KIT; por ejemplo, una población de mastocitos, una población de células madre, una población de células cerebrales, una población de melanoblastos o una población de células ováricas normales; por ejemplo, humanas). En realizaciones específicas, tales células de control pueden ser obtenidas o

derivadas de un individuo sano (por ejemplo, un ser humano sano). En algunas realizaciones, el KIT puede ser regulado aberrantemente al alza en un tipo particular de célula, sea expresado aberrantemente o no el KIT en la superficie celular. En realizaciones particulares, la señalización o la actividad de KIT puede ser regulada aberrantemente al alza en un tipo particular de célula, sea expresado aberrantemente o no el KIT en la superficie celular. En realizaciones particulares, la señalización del KIT es al menos aproximadamente un 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% mayor que la señalización del KIT de una célula de control (por ejemplo, una célula que contenga una señalización de KIT normal; por ejemplo, un mastocito, una célula madre, una célula cerebral, un melanoblasto o una célula ovárica). En realizaciones particulares, la señalización de KIT es al menos aproximadamente un 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% mayor que la señalización media de KIT de una población de células de control (por ejemplo, una población de células que presentan una señalización normal de KIT; por ejemplo, una población de mastocitos, una población de células madre, una población de células cerebrales, una población de melanoblastos o una población de células ováricas normales; por ejemplo, humanas). En ciertas realizaciones, una señalización celular normal, aberrante o excesiva es causada por la unión de KIT a un ligando de KIT. En otras realizaciones, una señalización celular aberrante o excesiva se produce con independencia de la unión de KIT a un ligando de KIT.

En ciertos aspectos, un trastorno o enfermedad asociado con KIT puede ser caracterizado por una actividad del KIT, un aumento en la actividad del KIT o una sobreexpresión de KIT con ganancia de función. En una realización, un trastorno o enfermedad asociado con KIT es causado completa o parcialmente por la actividad o expresión del KIT —por ejemplo, la sobreexpresión de KIT— con ganancia de función, o es resultado de la misma. En ciertas realizaciones, la actividad del KIT con ganancia de función puede ocurrir con independencia del ligando de KIT (por ejemplo, SCF) se una al receptor de KIT. En aspectos particulares, la alta expresión o sobreexpresión de KIT en una célula se refiere a un nivel de expresión que es al menos aproximadamente 35%, 45%, 55% o 65% más que el nivel de expresión de una célula de referencia que se sabe que tiene una expresión del KIT o una actividad del KIT normales o a un nivel de expresión del KIT por encima de la media en una población de células o muestras que se sabe que tienen una expresión del KIT o una actividad del KIT normales. Los niveles de expresión del KIT pueden ser evaluados por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, inmunoelectrotransferencia o inmunohistoquímica). En realizaciones particulares, un trastorno o enfermedad asociado con KIT está caracterizado por una actividad del KIT que es mayor que la actividad normal del KIT y contribuye a la transformación celular, a la neoplasia y a la tumorigénesis. En aspectos particulares, una actividad del KIT alta, o un aumento de la misma, en una célula se refiere a un nivel de la actividad del KIT que es al menos aproximadamente 35%, 45%, 55% o 65% mayor que el nivel de expresión de célula de referencia que se sabe que tiene una actividad normal del KIT o mayor que el nivel medio de la actividad del KIT en una población de células o muestras que se sabe que tienen una actividad normal del KIT. Ejemplos no limitantes de una actividad del KIT incluyen la fosforilación de la tirosina del dominio citoplasmático de KIT, y la señalización aguas debajo de KIT, tal como señalización de Stat o Akt.

Ejemplos no limitantes de trastornos o de trastornos o enfermedades asociados con KIT incluyen cánceres tales como el cáncer de mama, la leucemia (por ejemplo, leucemia mieloide crónica, leucemia mieloide aguda, leucemia mastocítica), el cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer microcítico de pulmón), el neuroblastoma, tumores estromales gastrointestinales (GIST), melanoma, cáncer colorrectal, sarcoma (por ejemplo, sarcoma de Ewing), y tumores de células germinales (por ejemplo, seminoma). En una realización particular, un cáncer que es tratado o gestionado por los métodos proporcionados en la presente memoria se caracteriza por una mutación de KIT con ganancia de función o una sobreexpresión de KIT.

Según la invención, un método descrito en la presente memoria es para tratar cáncer (por ejemplo, GIST, cáncer de pulmón o sarcoma (por ejemplo, sarcoma de Ewing)), comprendiendo dicho método la administración a un sujeto necesitado del mismo de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo. En ciertos aspectos, los métodos para prevenir, tratar o gestionar uno o más síntomas of cáncer pueden comprender la administración a un sujeto necesitado del mismo de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado), por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo. En una realización específica, un anticuerpo para su uso en los métodos de tratamiento del cáncer descritos en la presente memoria comprende un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 (L2), y/o un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 (H3). En una realización específica, un anticuerpo para su uso en los métodos de tratamiento del cáncer descritos en la presente memoria comprende un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 (L1), y/o un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 (H4).

En una realización específica, un método descrito en la presente memoria es para tratar GIST, comprendiendo dicho método la administración a un sujeto necesitado del mismo de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo. En ciertos aspectos, en la presente memoria también se

proporcionan los métodos para prevenir, tratar o gestionar uno o más síntomas of GIST, comprendiendo dichos métodos la administración a un sujeto necesitado del mismo de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo. En una realización específica, un anticuerpo para su uso en los métodos de tratamiento de GIST descritos en la presente memoria comprende un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 (L2), y/o un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 (H3). En una realización específica, un anticuerpo para su uso en los métodos de tratamiento de GIST descritos en la presente memoria comprende un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 (L1), y/o un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 (H4).

Según la invención, un método descrito en la presente memoria es para tratar cáncer de pulmón (por ejemplo, carcinoma microcítico de pulmón), comprendiendo dicho método la administración a un sujeto necesitado del mismo de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo. En ciertos aspectos, los métodos para prevenir, tratar o gestionar uno o más síntomas of cáncer de pulmón (por ejemplo, carcinoma microcítico de pulmón) pueden comprender la administración a un sujeto necesitado del mismo de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo. En una realización específica, un anticuerpo para su uso en los métodos de tratamiento del cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer microcítico de pulmón) comprende un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 (L2), y/o un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 (H3). En una realización específica, un anticuerpo para su uso en los métodos de tratamiento del cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer microcítico de pulmón) comprende un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 (L1), y/o un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 (H4).

Según la invención, un método descrito en la presente memoria es para tratar melanoma, comprendiendo dicho método la administración a un sujeto necesitado del mismo de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo. En ciertos aspectos, los métodos para prevenir, tratar o gestionar uno o más síntomas of melanoma pueden comprender la administración a un sujeto necesitado del mismo de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo. En una realización específica, un anticuerpo para su uso en los métodos de tratamiento del melanoma descritos en la presente memoria comprende un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 (L2), y/o un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 (H3). En una realización específica, un anticuerpo para su uso en los métodos de tratamiento del melanoma descritos en la presente memoria comprende un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 (L1), y/o un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 (H4).

En realizaciones específicas, un cáncer tratado según los métodos descritos en la presente memoria puede ser cualquier tipo de cáncer que comprenda células cancerosas o tumorales que expresen KIT en la superficie celular o una forma mutada del mismo, lo que puede ser confirmado por cualquier método histológico o citológico conocido para un experto en la técnica.

En ciertas realizaciones, un cáncer es metastásico. En ciertas realizaciones, un cáncer es un cáncer avanzado que se ha propagado fuera del sitio o el órgano de origen, ya sea por invasión local o metástasis.

En realizaciones particulares, un cáncer es un cáncer recurrente que ha vuelto a desarrollarse, ya sea en el sitio inicial o en un sitio distante, después de una respuesta a la terapia inicial (por ejemplo, después de cirugía para extirpar el tumor y de terapia adyuvante tras la cirugía). En algunas realizaciones, un cáncer es un cáncer refractario que avanza aunque se administre o se haya administrado un antitumoral, tal como un agente quimioterapéutico, al paciente de cáncer. Un ejemplo no limitante de cáncer refractario es aquel que es refractario a un inhibidor de la tirosina quinasa, tal como GLEEVEC® (mesilato de imatinib), SUTENT® (SU11248 o sunitinib), IRESSA™ (gefitinib), TARCEVA® (erlotinib), NEXAVAR® (sorafenib) o VOTRIENT™ (pazopanib). En algunas realizaciones, un cáncer es un cáncer refractario que avanza aunque se administre o se haya administrado radiación o quimioterapia al paciente de cáncer.

En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria para su uso en métodos para tratar un cáncer refractario en un paciente necesitado de ello que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria, siendo el cáncer refractario resistente o refractario a un agente anticancerígeno tal como un inhibidor de la tirosina

- quinasa (por ejemplo, GLEEVEC® (mesilato de imatinib) o SUTENT® (SU11248 o Sunitinib)). Otros ejemplos no limitantes de inhibidores de la tirosina quinasa incluyen 706 y AMN107 (nilotinib), RAD001, PKC412, gefitinib (IRESSA™), erlotinib (TARCEVA®), sorafenib (NEXAVAR®), pazopanib (VOTRIENT™), axitinib, bosutinib, cediranib (RECENTIN®), SPRYCEL® (dasatinib), lapatinib (TYKERB®), lestaurtinib, neratinib, nilotinib (TASIGNA®), semaxanib, toceranib (PALLADIA™), vandetanib (ZACTIMA™) y vatalanib. En ciertas realizaciones, el cáncer refractario fue inicialmente sensible a un agente anticancerígeno, tal como un inhibidor de la tirosina quinasa (por ejemplo, GLEEVEC® o SU11248 (es decir, sunitinib)), pero ha desarrollado resistencia al agente anticancerígeno. En ciertas realizaciones, un sujeto tiene una o más mutaciones en el KIT que confieren resistencia a un agente anticancerígeno tal como un inhibidor de la tirosina quinasa.
- En realizaciones particulares, se administra un anticuerpo descrito en la presente memoria a un paciente que ha recibido previamente, o esté recibiendo en ese momento, una o más terapias anticancerígenas; por ejemplo, un agente quimioterapéutico, o un inhibidor de la tirosina quinasa (por ejemplo, GLEEVEC® (mesilato de imatinib), SUTENT® (SU11248 o sunitinib), IRESSA™ (gefitinib), TARCEVA® (erlotinib), NEXAVAR® (sorafenib), o VOTRIENT™ (pazopanib)) o un inhibidor de la histona deacetilasa (por ejemplo, vorinostat o ácido suberoilánido hidroxámico (SAHA)). En otras realizaciones particulares, se administra un anticuerpo descrito en la presente memoria a un paciente que es o se sospecha que es resistente o refractario a una terapia anticancerígena; por ejemplo, un inhibidor de la tirosina quinasa, por ejemplo, GLEEVEC® (mesilato de imatinib), SUTENT® (SU11248 o sunitinib), IRESSA™ (gefitinib), TARCEVA® (erlotinib), NEXAVAR® (sorafenib), o VOTRIENT™ (pazopanib).
- En realizaciones particulares, un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, o un fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, un fragmento de unión a KIT del mismo), o un conjugado del mismo) es administrado a un paciente que ha recibido previamente, o esté recibiendo en ese momento, una o más terapias anticancerígenas; por ejemplo, un anticuerpo anti receptor del factor de crecimiento (por ejemplo, el anticuerpo anti-HER2, el anticuerpo anti-EGFR, el anticuerpo anti-VEGFR, o un anticuerpo anti KIT), o un anticuerpo anti factor de crecimiento (por ejemplo, el anticuerpo anti-EGF, el anticuerpo anti-VEGF). En otras realizaciones particulares, un anticuerpo descrito en la presente memoria es administrado a un paciente que es o se sospecha que es resistente o refractario a una terapia anticancerígena; por ejemplo, un anticuerpo anti receptor del factor de crecimiento (por ejemplo, el anticuerpo anti-HER2, el anticuerpo anti-EGFR, el anticuerpo anti-VEGFR, o un anticuerpo anti KIT) o un anticuerpo anti factor de crecimiento (por ejemplo, el anticuerpo anti-EGF, el anticuerpo anti-VEGF).
- Según la invención, un método descrito en la presente memoria para el tratamiento o la gestión de cáncer en un sujeto necesitado de ello, puede lograr al menos uno, dos, tres, cuatro o más de los siguientes efectos debido a la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria: (i) la reducción o la mejoría de la gravedad del cáncer (por ejemplo, leucemia, cáncer de pulmón o cáncer estromal gastrointestinal) y/o uno o más síntomas asociados con el mismo; (ii) la reducción en la duración de uno o más síntomas asociados con un cáncer (por ejemplo, leucemia, cáncer de pulmón o cáncer estromal gastrointestinal); (iii) la prevención en la recurrencia de un tumor (por ejemplo, un tumor de pulmón o un tumor estromal gastrointestinal); (iv) la regresión de un cáncer (por ejemplo, leucemia, cáncer de pulmón o tumor estromal gastrointestinal) y/o uno o más síntomas asociados con el mismo; (v) la reducción en la hospitalización de un sujeto; (vi) la reducción en la duración de la hospitalización; (vii) el aumento en la supervivencia de un sujeto; (viii) la inhibición del avance de un cáncer (por ejemplo, leucemia, cáncer de pulmón o tumor estromal gastrointestinal) y/o de uno o más síntomas asociados con el mismo; (ix) la potenciación o mejora del efecto terapéutico de otra terapia (por ejemplo, cirugía, radiación, quimioterapia u otro inhibidor de la tirosina quinasa); (x) una reducción en la población de células cancerosas o su eliminación (por ejemplo, la población de células de leucemia, la población de células de cáncer de pulmón, la población de células de tumor estromal gastrointestinal); (xi) una reducción en el crecimiento de un tumor o neoplasma; (xii) una disminución en el tamaño del tumor (por ejemplo, del volumen o el diámetro); (xiii) una reducción en la formación de tumores recién formados; (xiv) erradicación, eliminación o control de cáncer primario, regional y/o metastásico; (xv) facilitación en la extirpación de un tumor reduciendo el tumor y/o la vascularización relacionada con el edema antes de la cirugía; (xvi) una disminución en el número o el tamaño de las metástasis; (xvii) una reducción en mortalidad; (xviii) un aumento en la tasa de supervivencia libre de tumor de pacientes; (xix) un aumento en la supervivencia libre de recaídas; (xx) un aumento en el número de pacientes en remisión; (xxi) una disminución en la tasa de hospitalización; (xxii) el tamaño del tumor se mantiene y no aumenta o aumenta menos que el aumento de un tumor después de la administración de una terapia estándar medido por métodos convencionales disponibles para un experto en la técnica, tal como el escáner de tomografía computarizada (TC), la formación de imágenes por resonancia magnética (IRM), IRM mejorada por contraste dinámico (DCE-MRI), o un escáner de tomografía por emisión de positrones (PET); (xxiii) la prevención del desarrollo o la aparición de uno o más síntomas asociados con el cáncer; (xxiv) un aumento en la duración de la remisión en los pacientes; (xxv) la reducción en el número de síntomas asociados con el cáncer; (xxvi) un aumento en la supervivencia libre de síntomas de pacientes con cáncer; (xxvii) una disminución en la concentración de uno o más mediadores inflamatorios (por ejemplo, citoquinas o interleucinas) en muestras biológicas (por ejemplo, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, orina o cualquier otro biofluido) de un sujeto con un cáncer (por ejemplo, leucemia, cáncer de pulmón o cáncer estromal gastrointestinal); (xxviii) una disminución en las células tumorales circulantes (CTC) en la sangre de un sujeto con cáncer (por ejemplo, leucemia, cáncer de pulmón o cáncer estromal gastrointestinal); (xxix)

la inhibición (por ejemplo, la inhibición parcial) o la disminución en el metabolismo o perfusión tumoral; y (xxx) mejora en la calidad de vida evaluada por métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, cuestionarios.

En ciertos aspectos, los métodos para matar células cancerosas en un individuo pueden comprender administrar a un individuo necesitado de ello una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo. En ciertos aspectos, los métodos para inhibir el desarrollo o la proliferación de células cancerosas en un individuo pueden comprender administrar a un individuo necesitado de ello una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo. En ciertas realizaciones, se logra una inhibición parcial del desarrollo o de la proliferación de células cancerosas; por ejemplo, una inhibición de al menos aproximadamente 20% a aproximadamente 55% del desarrollo o la proliferación de células cancerosas.

En ciertos aspectos, los métodos para reducir el tamaño o la carga tumoral en un individuo necesitado de ello pueden comprender administrar a dicho individuo una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum17, Hum10, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo.

Otros ejemplos no limitantes de trastornos o enfermedades asociados con KIT incluyen trastornos sistémicos de mastocitos (por ejemplo, mastocitosis), trastornos hematológicos, fibrosis (por ejemplo, fibrosis pulmonar idiopática (TPF), esclerodermia o mielofibrosis) y afecciones inflamatorias tales como asma, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal e inflamación alérgica.

Según la invención, un método descrito en la presente memoria para el tratamiento o la gestión de un trastorno asociado con KIT, por ejemplo, fibrosis o una afección inflamatoria (por ejemplo, asma, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal e inflamación alérgica), en un sujeto necesitado de ello, puede lograr al menos uno, dos, tres, cuatro o más de los siguientes efectos debido a la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria: (i) la reducción o la mejoría de la gravedad de la fibrosis o de una afección inflamatoria (por ejemplo, asma, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal e inflamación alérgica) y/o de uno o más síntomas asociados con la misma; (ii) la reducción en la duración de uno o más síntomas asociados con la fibrosis o una afección inflamatoria (por ejemplo, asma, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal e inflamación alérgica); (iii) la prevención en la recurrencia de la fibrosis o de una afección inflamatoria (por ejemplo, asma, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal e inflamación alérgica); (iv) la reducción en la hospitalización de un sujeto; (v) la reducción en la duración de la hospitalización; (vi) la inhibición (por ejemplo, la inhibición parcial) del avance de la fibrosis o de una afección inflamatoria (por ejemplo, asma, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal e inflamación alérgica) y/o de uno o más síntomas asociados con la misma; (vii) la potenciación o la mejora del efecto terapéutico de otra terapia (por ejemplo, una terapia antiinflamatoria tal como esteroides); (viii) un aumento en el número de pacientes en remisión (es decir, un periodo de tiempo caracterizado por carencia de síntomas o síntomas mínimos asociados con la afección inflamatoria); (ix) un aumento en la duración de la remisión en los pacientes; (x) una disminución en la tasa de hospitalización; (xi) la reducción en el número de síntomas asociados con la fibrosis o con una afección inflamatoria (por ejemplo, asma, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal e inflamación alérgica); (xii) una disminución en la concentración de uno o más mediadores inflamatorios (por ejemplo, citoquinas o interleucinas) en muestras biológicas (por ejemplo, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, orina, o cualquier otro biofluido) de un sujeto con fibrosis o una afección inflamatoria (por ejemplo, asma, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal e inflamación alérgica); y (xiii) mejora en la calidad de vida evaluada por métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, cuestionarios.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria puede ser administrado por cualquier método adecuado a un sujeto necesitado del mismo. Ejemplos no limitantes de métodos de administración incluyen la administración por las mucosas, intradérmica, intravenosa, intratumoral, subcutánea, intramuscular y/o por cualquier otro método de distribución física descrito en la presente memoria o conocido en la técnica. En una realización, un anticuerpo anti KIT o una composición farmacéutica del mismo es administrado sistémicamente (por ejemplo, parenteralmente) a un sujeto necesitado de ello. En otra realización, un anticuerpo anti KIT o una composición farmacéutica del mismo es administrado localmente (por ejemplo, intratumoralmente) a un sujeto necesitado de ello. Cada dosis puede ser administrada o no por una vía idéntica de administración. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria puede ser administrado a través de múltiples vías de administración simultánea o subsiguientemente a otras dosis del mismo anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria o de uno diferente.

Cuando se está tratando una enfermedad, o un síntoma de la misma, la administración de la sustancia se produce normalmente después de la aparición de la enfermedad o de los síntomas de la misma. Cuando se están previniendo una enfermedad o síntomas de la misma, la administración de la sustancia se produce normalmente

antes de la aparición de la enfermedad o de los síntomas de la misma. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria es administrado profilácticamente o terapéuticamente a un sujeto. Un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria puede ser administrado profilácticamente o terapéuticamente a un sujeto para prevenir, aminorar o mejorar un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis) o síntomas del mismo.

La dosificación y la frecuencia de administración de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria o de una composición farmacéutica del mismo administrado a un sujeto necesitado de ello según los métodos para tratar un trastorno o enfermedad asociado con KIT proporcionados en la presente memoria serán eficaces a la vez que minimizarán los efectos secundarios. La dosificación exacta de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria que ha de ser administrada a un sujeto particular, o de una composición farmacéutica del mismo, puede ser determinada por un médico, teniendo en cuenta factores relativos al sujeto que requiere el tratamiento. Los factores que pueden ser tomados en cuenta incluyen la gravedad del estado de la enfermedad, la salud general del sujeto, la edad y el peso del sujeto, la dieta, el tiempo y la frecuencia de administración, la o las combinaciones con otros agentes terapéuticos o fármacos, las sensibilidades de reacción y la tolerancia/respuesta a la terapia. La dosificación y la frecuencia de administración de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria o de una composición farmacéutica del mismo puede ser ajustada en el transcurso del tiempo para permitir niveles suficientes del anticuerpo anti KIT o para mantener el efecto deseado.

La dosis precisa que ha de emplearse en la formulación también dependerá de la vía de administración, y de la gravedad del trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis), y debería decidirse sobre ella según el criterio del médico y según las circunstancias de cada paciente.

En una realización, para los anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria, la dosificación administrada a un paciente, para gestionar un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis) es normalmente de 0,1 mg/kg a 100 mg/kg del peso corporal del paciente. Generalmente, los anticuerpos humanos tienen mayor vida media dentro del cuerpo humano que los anticuerpos procedentes de otras especies, debido a la respuesta inmunitaria a los polipéptidos foráneos. Así, a menudo son posibles dosificaciones menores de anticuerpos humanos y una administración menos frecuente. Además, la dosificación y la frecuencia de administración de los anticuerpos descritos en la presente memoria pueden ser reducidas potenciando la captura de los anticuerpos y su penetración en los tejidos mediante modificaciones tales como, por ejemplo, la lipidación.

En una realización, entre aproximadamente 0,001 mg/kg (mg de anticuerpo por kg de peso de un sujeto) y aproximadamente 500 mg/kg de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria es administrada para gestionar un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis).

En algunas realizaciones, una cantidad efectiva de un anticuerpo proporcionado en la presente memoria está entre aproximadamente 0,01 mg y aproximadamente 1.000 mg. En realizaciones específicas, una "cantidad efectiva" de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria se refiere a una cantidad de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria que es suficiente para lograr al menos uno, dos, tres, cuatro o más de los siguientes efectos: (i) la reducción o la mejoría de la gravedad de un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis) y/o uno o más síntomas asociados con el mismo; (ii) la reducción en la duración de uno o más síntomas asociados con un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis); (iii) la prevención en la recurrencia de un tumor (por ejemplo, tumor estromal gastrointestinal); (iv) la regresión de un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis) y/o de uno o más síntomas asociados con el mismo; (v) la reducción en la hospitalización de un sujeto; (vi) la reducción en la duración de la hospitalización; (vii) el aumento en la supervivencia de un sujeto; (viii) la inhibición (por ejemplo, la inhibición parcial) del avance de un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis) y/o de uno o más síntomas asociados con el mismo; (ix) la potenciación o la mejora del efecto terapéutico de otra terapia; (x) una reducción en la población de células cancerosas o su eliminación (por ejemplo, la población de células de leucemia, la población de células de cáncer de pulmón, la población de células de cáncer estromal gastrointestinal); (xi) una reducción en el crecimiento de un tumor o neoplasma; (xii) una disminución en el tamaño del tumor (por ejemplo, del volumen o el diámetro); (xiii) una reducción en la formación de tumores recién formados; (xiv) erradicación, eliminación o control de cáncer primario, regional y/o metastásico; (xv) facilitación en la extirpación de un tumor reduciendo el tumor y/o la vascularización relacionada con el edema antes de la cirugía; (xvi) una disminución en el número o el tamaño de las metástasis; (xvii) una reducción en mortalidad; (xviii) un aumento en la tasa de supervivencia libre de tumor de pacientes; (xvix) un aumento en la supervivencia libre de recaídas; (xx) un aumento en el número de pacientes en remisión; (xxi) una disminución en la tasa de hospitalización; (xxii) el tamaño del tumor se mantiene y no aumenta o aumenta menos que el aumento de un tumor después de la administración de una terapia estándar medido por métodos convencionales disponibles para un experto en la técnica, tal como el escáner de tomografía computarizada (TC), la formación de imágenes por resonancia magnética (IRM), IRM mejorada por contraste dinámico (DCE-MRI), o un escáner de tomografía por emisión de positrones (PET); (xxiii) la prevención del desarrollo o la aparición de uno o más síntomas asociados con el cáncer; (xxiv) un aumento en la duración de la remisión en los pacientes; (xxv) la reducción en el número de síntomas asociados con el cáncer; (xxvi) un aumento en la supervivencia libre de síntomas de pacientes con cáncer; (xxvii) una disminución en la concentración de uno o más mediadores inflamatorios (por ejemplo, citoquinas o

- interleucinas) en muestras biológicas (por ejemplo, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, orina, o cualquier otro biofluido) de un sujeto con un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis); (xxviii) una disminución en las células tumorales circulantes (CTC) en la sangre de un sujeto con cáncer; (xxix) la inhibición (por ejemplo, la inhibición parcial) o la disminución en el metabolismo o perfusión tumoral; y (xxx) mejora en la calidad de vida evaluada por métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, cuestionarios. En algunas realizaciones, “cantidad efectiva”, según se usa en la presente memoria, también se refiere a la cantidad de un anticuerpo descrito en la presente memoria para lograr un resultado especificado (por ejemplo, la inhibición de una o más actividades biológicas de KIT de una célula, tales como la inhibición de la proliferación celular).
- En algunas realizaciones, un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria es administrado, según sea necesario; por ejemplo, semanalmente, bisemanalmente (es decir, una vez cada dos semanas), mensualmente, bimensualmente, trimensualmente, etc., según determine el médico.
- En algunas realizaciones, se administra una o más veces a un paciente una sola dosis de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria para impedir, prevenir, gestionar, tratar y/o mejorar un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis).
- En realizaciones particulares, se administra a un sujeto, en ciclos, un anticuerpo anti KIT o una composición farmacéutica del mismo según los métodos para tratar un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis) presentado en la presente memoria, administrándose el anticuerpo anti KIT o la composición farmacéutica durante un periodo de tiempo, seguido por un periodo de reposo (es decir, el anticuerpo anti KIT o la composición farmacéutica no es administrado durante un periodo de tiempo).
- En la presente memoria también se presentan terapias de combinación para el tratamiento de un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis) que implican la administración de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum10, Hum17, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, un fragmento de unión a KIT del mismo), o un conjugado de anticuerpos del mismo en combinación con una o más terapias adicionales (por ejemplo, un agente quimioterapéutico, un inhibidor de la tirosina quinasa, inhibidores de PGP, inhibidores de HSP-90, inhibidores de proteosomas o un inhibidor de la histona desacetilasa) a un sujeto necesitado de ello. En una realización específica, en la presente memoria se presentan terapias de combinación para el tratamiento de un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis) que implican la administración de una cantidad (por ejemplo, una cantidad terapéuticamente efectiva o una cantidad subóptima) de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria en combinación con una cantidad (por ejemplo, una cantidad terapéuticamente efectiva o una cantidad subóptima) de otra terapia (por ejemplo, agente quimioterapéutico, inhibidor de la tirosina quinasa o un inhibidor de la histona desacetilasa) a un sujeto necesitado de ello.
- En las terapias de combinación, uno o más anticuerpos anti KIT proporcionados en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum10, Hum17, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos (por ejemplo, un fragmento de unión a KIT de los mismos), o un conjugado de anticuerpos de los mismos pueden ser administrados antes de la administración, concurrentemente con ella o subsiguientemente a ella, de una o más terapias adicionales (por ejemplo, agentes, cirugía o radiación) para su uso en el tratamiento, la gestión y/o la mejoría de un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis). El uso de la expresión “en combinación” no restringe el orden en el que uno o más anticuerpos anti KIT y una o más terapias adicionales son administrados a un sujeto. En realizaciones específicas, las terapias pueden ser administradas en serie o secuencialmente.
- En realizaciones específicas, uno o más anticuerpos anti KIT proporcionados en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum10, Hum17, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos (por ejemplo, un fragmento de unión a KIT de los mismos), o un conjugado de anticuerpos de los mismos pueden ser administrados antes de la administración, concurrentemente con ella o subsiguientemente a ella, of una o más terapias adicionales, tales como agentes —por ejemplo, inhibidores de la tirosina quinasa (por ejemplo, mesilato de imatinib (Gleevec®) o sunitinib (SUTENT), o inhibidores de la histona desacetilasa (por ejemplo, vorinostat o ácido suberoilánidido hidroxámico (SAHA))— para tratar, gestionar, y/o mejorar un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, por ejemplo, GIST, melanoma o cáncer de pulmón).
- En otra realización específica, en la presente memoria se presentan terapias de combinación para el tratamiento de un trastorno o enfermedad asociado con KIT (por ejemplo, cáncer, afección inflamatoria, fibrosis) que implican la administración de una cantidad de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum10, Hum17, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, un fragmento de unión a KIT del mismo), o un conjugado de anticuerpos del mismo en combinación con una cantidad de otra terapia (por ejemplo, agente quimioterapéutico, inhibidor de la tirosina quinasa o un inhibidor de la histona desacetilasa) a un sujeto

necesitado de ello. En una realización específica, las terapias de combinación dan lugar a un efecto sinérgico. En ciertas realizaciones, las terapias de combinación dan lugar a un efecto aditivo.

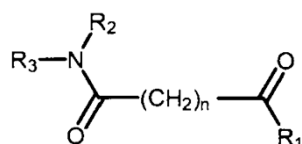
En una realización específica, en la presente memoria se presentan terapias de combinación para el tratamiento del cáncer que implican la administración de una cantidad de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria en combinación con una cantidad de otra terapia (por ejemplo, cirugía, radiación, trasplante de células madre o quimioterapia) a un sujeto necesitado de ello. En una realización específica, las terapias de combinación dan lugar a un efecto sinérgico. En otra realización específica, las terapias de combinación dan lugar a un efecto aditivo.

En una realización específica, en la presente memoria se presentan terapias de combinación para el tratamiento de una afección inflamatoria que implican la administración de una cantidad de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria en combinación con una cantidad de otra terapia (por ejemplo, terapia antiinflamatoria; por ejemplo, terapia con esteroides) a un sujeto necesitado de ello. En una realización específica, las terapias de combinación dan lugar a un efecto sinérgico. En otra realización específica, las terapias de combinación dan lugar a un efecto aditivo.

Ejemplos no limitantes de otra terapia para su uso en combinación con anticuerpos descritos en la presente memoria incluyen: otro anticuerpo anti KIT que se une inmunoespecíficamente a un epítipo diferente de KIT, uno o más anticuerpos adicionales (por ejemplo, el anticuerpo anti-HER2, el anticuerpo anti-EGFR, el anticuerpo anti-VEGF), terapia antiinflamatoria, quimioterapia (por ejemplo, bloqueador de la despolimerización de microtúbulos, antimetabolito, inhibidor de la topoisomerasa, y reticulante o agente lesional de ADN), radiación, cirugía, inhibidores de PGP (por ejemplo, ciclosporina A, Verapamil), inhibidores de HSP-90 (por ejemplo, 17-AAG, STA-9090), inhibidores de proteosomas (por ejemplo, Bortezomib) e inhibidores de la tirosina quinasa (por ejemplo, mesilato de imatinib (GLEEVEC®), sunitinib (SUTENT® o SU11248), gefitinib (IRESSA™), erlotinib (TARCEVA®), sorafenib (NEXAVAR®), pazopanib (VOTRIENT™), axitinib, bosutinib, cediranib (RECENTIN®), SPRYCEL® (dasatinib), lapatinib (TYKERB®), lestaurtinib, neratinib, nilotinib (TASIGNA®), semaxanib, toceranib (PALLADIA™), vandetanib (ZACTIMA™) y vatalanib). En una realización específica, otra terapia para su uso en combinación con anticuerpos descritos en la presente memoria es mesilato de imatinib.

Otros ejemplos no limitantes de otra terapia para su uso en combinación con anticuerpos descritos en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum10, Hum17, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos (por ejemplo, un fragmento de unión a KIT de los mismos), o un conjugado de anticuerpos de los mismos incluyen un inhibidor de la histona deacetilasa, tal como vorinostat o ácido suberoilánido hidroxámico (SAHA) o un compuesto que tenga la fórmula química (I), (II) o (III) según se define a continuación. En una realización específica, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo de la invención para su uso en un método para tratar cáncer (por ejemplo, GIST o cáncer de pulmón) que comprende (i) administrar un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum10, Hum17, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, un fragmento de unión a KIT del mismo), o un conjugado de anticuerpos del mismo; y (ii) un inhibidor de la histona deacetilasa, por ejemplo, vorinostat o ácido suberoilánido hidroxámico (SAHA) o un compuesto que tenga la fórmula química (I), (II) o (III) según se define a continuación.

En una realización, en la presente memoria se proporcionan para su uso en los métodos descritos en la presente memoria en combinación con anticuerpos anti KIT compuestos de Fórmula (I)



Fórmula (I)

o una sal, un hidrato o un solvato farmacéuticamente aceptables de la misma, en la que

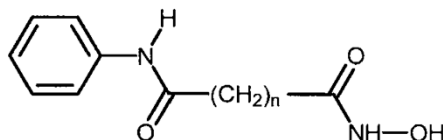
R₁ es hidroxilamino:

cada uno de R₂ y R₃ son, independientemente, iguales o diferentes entre sí, sustituidos o insustituidos, ramificados o no ramificados, y son hidrógeno, hidroxilo, alquilo, alquenilo, cicloalquilo, arilo, alquiloxi, ariloxi, arilalquiloxi o piridina; o R₂ and R₃ están unidos entre sí formando una piperidina; y n es un número entero de 5 a 7.

En una realización, R₂ es un átomo de hidrógeno y R₃ es fenilo sustituido o insustituido. En cierta realización, R₃ es fenilo sustituido con metilo, ciano, nitro, trifluorometilo, amino, aminocarbonilo, metilciano, cloro, fluoro, bromo, yodo, 2,3-difluoro, 2,4-difluoro, 2,5-difluoro, 3,4-difluoro, 3,5-difluoro, 2,6-difluoro, 1,2,3-trifluoro, 2,3,6-trifluoro, 2,4,6-

trifluoro, 3,4,5-trifluoro, 2,3,5,6-tetrafluoro, 2,3,4,5,6-pentafluoro, azido, hexilo, t-butilo, fenilo, carboxilo, hidroxilo, metoxi, feniloxi, benciloxi, fenilaminooxi, fenilaminocarbonilo, metoxicarbonilo, metilaminocarbonilo, dimetilamino, dimetilaminocarbonilo o hidroxilaminocarbonilo. En otra realización, R₃ es fenilo insustituido. En una realización adicional, n es 6.

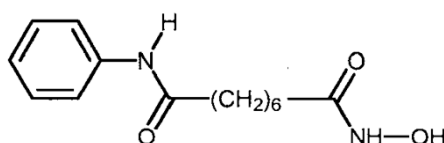
- 5 En una realización, en la presente memoria se proporcionan para su uso en los métodos descritos en la presente memoria en combinación con anticuerpos anti KIT compuestos de Fórmula (II)



Fórmula (II)

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables de la misma, en la que n es un número entero entre 5 y 8. En una realización, n es 6.

- 10 En una realización, en la presente memoria se proporciona para su uso en los métodos descritos en la presente memoria en combinación con anticuerpos anti KIT un compuesto de Fórmula (III) (SAHA)



Fórmula (III) (SAHA)

o una sal, un hidrato o un solvato farmacéuticamente aceptables de la misma.

Los compuestos de Fórmulas I-III pueden ser sintetizados según los métodos descritos en la patente estadounidense expedida en reemplazo nº RE38.506 y en la patente estadounidense nº 6.087.367.

- 15 En una realización, en la presente memoria se proporciona para su uso en los métodos descritos en la presente memoria en combinación con anticuerpos anti KIT un polimorfo de Forma I de SAHA caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al definido en la Figura 13A de la patente estadounidense nº 7.456.219. En una realización el polimorfo de la Forma I de SAHA se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X que incluye picos característicos a aproximadamente 9,0, 9,4, 17,5, 19,4, 20,0, 24,0, 24,4, 24,8, 25,0, 28,0 y 43,3 grados 2θ, medidos con un difractómetro automatizado de polvo Siemens D500 (intervalo: 4-40 grados 2θ; fuente: Cu; λ=1,54 Angstrom, 50kV, 40mA).
- 20

En cierta realización, el polimorfo de la Forma I de SAHA se caracteriza por un termograma de calorimetría de barrido diferencial (DSC) que tiene un único valor máximo a aproximadamente 164,4±2,0°C, medido por un instrumento Perkins Elmer DSC 6 a una tasa de calentamiento de 10°C/min desde 50°C hasta al menos 30°C por encima de la temperatura observada de fusión.

- 25 El polimorfo de la Forma I de SAHA puede ser sintetizado según los métodos descritos en la patente estadounidense nº 7.456.219.

En una realización, en la presente memoria se proporciona una composición cristalina que comprende lisina y SAHA caracterizada por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al definido en la Figura 1 de la publicación de solicitud de patente internacional nº WO2008/042146. En otra realización, la composición cristalina se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X que incluye picos característicos a aproximadamente 6,8, 20,1 y 23,2 grados 2θ, medidos con un difractómetro de polvo de rayos X PANanalytical X'Pert Pro (intervalo: 2-40 grados 2θ; fuente: Cu Kα1 y Kα2). En otra realización, la composición cristalina se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X que incluye picos característicos a aproximadamente 6,8, 12,6, 18,7, 20,1 23,2 y 24,0 grados 2θ, medidos con un difractómetro de polvo de rayos X PANanalytical X'Pert Pro (intervalo: 2-40 grados 2θ; fuente: Cu Kα1 y Kα2).

30

35 En otra realización, la composición cristalina se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X que incluye picos característicos a aproximadamente 6,8, 12,0, 12,6, 16,4, 18,7, 20,1 23,2, 24,0, 29,3 grados 2θ, medidos con un difractómetro de polvo de rayos X PANanalytical X'Pert Pro (intervalo: 2-40 grados 2θ; fuente: Cu Kα1 y Kα2).

En cierta realización, la composición cristalina que comprende lisina y SAHA se caracteriza por un termograma de calorimetría de barrido diferencial (DSC) en el que la endoterma de la composición cristalina presenta una

temperatura inicial extrapolada de aproximadamente 182°C, medida por un calorímetro de barrido diferencial TA Instruments Q1000 a una tasa de calentamiento de 10°C/min desde la temperatura ambiente hasta 300°C.

La composición cristalina que comprende lisina y SAHA puede ser sintetizada según los métodos descritos en la publicación de solicitud de patente internacional nº WO2008/042146.

- 5 En ciertas realizaciones, las terapias de combinación descritas en la presente memoria dan lugar a sinergia o a un efecto sinérgico. En una realización específica, un efecto sinérgico de una terapia de combinación permite el uso de menores dosis (por ejemplo, dosis subóptimas) de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria y/o de una terapia adicional y/o una administración menos frecuente de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria o de una terapia adicional a un sujeto. En ciertas realizaciones, la capacidad de utilizar menores dosis de un anticuerpo anti KIT y/o de una terapia adicional y/o de administrar un anticuerpo anti KIT o dicha terapia adicional menos frecuentemente reduce la toxicidad asociada con la administración de un anticuerpo anti KIT o de dicha terapia adicional, respectivamente, a un sujeto sin reducir la eficacia de un anticuerpo anti KIT o de dicha terapia adicional, respectivamente, en el tratamiento de un trastorno o enfermedad asociado con KIT. En algunas realizaciones, un efecto sinérgico da como resultado una mayor eficacia de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria y/o de dichas terapias adicionales en el tratamiento de un trastorno o enfermedad asociado con KIT. En algunas realizaciones, un efecto sinérgico de una combinación de un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria y de una o más terapias adicionales evita o reduce efectos secundarios adversos o no deseados asociados con el uso de cualquier terapia aislada.

- 20 En la presente memoria se proporcionan métodos para inhibir la actividad del KIT en una célula que expresa el KIT que comprenden poner la célula en contacto con una cantidad eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum10, Hum17, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos (por ejemplo, un fragmento de unión a KIT de los mismos), o un conjugado de anticuerpos de los mismos. En la presente memoria también se proporcionan métodos para inducir o potenciar la apoptosis en una célula que expresa el KIT que comprende poner la célula en contacto con una cantidad eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria. En la presente memoria también se proporcionan métodos para inducir o potenciar la diferenciación celular en una célula que expresa el KIT que comprenden poner la célula en contacto con una cantidad eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria.

- 30 La actividad del KIT y, por ejemplo, el efecto de un anticuerpo en la actividad del KIT pueden ser evaluados de forma rutinaria usando, por ejemplo, ensayos a base de células, tales como los descritos en la presente memoria.

- Ejemplos no limitantes de actividad del KIT que puede ser inhibida por los métodos proporcionados en la presente memoria pueden incluir cualquier actividad de KIT que se conozca o esté descrita en la técnica; por ejemplo, la dimerización del receptor KIT, la fosforilación del receptor KIT (fosforilación de la tirosina), la señalización aguas abajo del receptor KIT (por ejemplo, señalización Stat, AKT, MAPK o Ras), la regulación transcripcional inducida por ligandos de KIT (por ejemplo, SCF) (por ejemplo, la activación transcripcional de c-Myc inducida por SCF), la inducción o potenciación de la proliferación celular o la supervivencia celular.

- 40 En ciertas realizaciones, un método para inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en una célula que expresa el KIT comprende poner la célula en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum10, Hum17, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos (por ejemplo, un fragmento de unión a KIT de los mismos), o un conjugado de anticuerpos de los mismos, suficiente para inhibir o antagonizar la actividad del KIT en al menos aproximadamente 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria y/o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, ELISA). En ciertas realizaciones, un método para inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en una célula que expresa el KIT comprende poner la célula en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum10, Hum17, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos (por ejemplo, un fragmento de unión a KIT de los mismos), o un conjugado de anticuerpos de los mismos, suficiente para inhibir o antagonizar la actividad del KIT en al menos aproximadamente 25%, 35%, 45%, 50%, 55% o 65%, evaluada por métodos descritos en la presente memoria y/o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, ELISA). Ejemplos no limitantes de la actividad del KIT pueden incluir la fosforilación del receptor KIT, la señalización del receptor KIT, la proliferación celular arbitrada por ligandos KIT (por ejemplo, SCF), la supervivencia celular arbitrada por ligandos KIT (por ejemplo, SCF) y la activación transcripcional de un gen diana de KIT (por ejemplo, c-Myc).

- 55 En una realización particular, un método para inhibir la actividad del KIT en una célula que expresa el KIT comprende poner la célula en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria (por ejemplo, un anticuerpo anti KIT humanizado); por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, tal como Hum10, Hum17, Hum8 o Hum4, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos (por ejemplo, un fragmento de unión a KIT de los mismos), o un conjugado de anticuerpos de los mismos, suficiente para inhibir (por

ejemplo, inhibir parcialmente) o antagonizar aguas abajo la señalización de KIT; por ejemplo, la señalización de un miembro de las quinasas de la familia Src, las quinasas PI3 o Ras-MAPK.

En otra realización particular, un método para inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) una o más actividades de KIT en una célula que expresa el KIT, comprende poner la célula en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inhibir o antagonizar aguas abajo la señalización de KIT, tal como la fosforilación de MAPK, la fosforilación de AKT, o la fosforilación de Stat1, Stat3, o Stat5.

En ciertas realizaciones, un método para inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en una célula que expresa el KIT comprende poner la célula en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inhibir o reducir la fosforilación de AKT (por ejemplo, la fosforilación de AKT inducida por ligandos de KIT (por ejemplo, SCF)) en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica, por ejemplo, inmunoelectrotransferencia o ensayo ELISA, según se describe en la Sección 6, o el ensayo de inmunotransferencia. En ciertas realizaciones, un método para inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en una célula que expresa el KIT comprende poner la célula en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inhibir o reducir la fosforilación de AKT (por ejemplo, la fosforilación de AKT inducida por ligandos de KIT (por ejemplo, SCF)) en al menos aproximadamente 25%, 35%, 45%, 55% o 65%, evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica, por ejemplo, inmunoelectrotransferencia o ensayo ELISA, según se describe en la Sección 6, o el ensayo de inmunotransferencia.

En ciertos aspectos, un método para inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en una célula (por ejemplo, una célula cancerosa) que expresa KIT comprende poner la célula en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inhibir la proliferación de la célula. Los ensayos de proliferación celular son descritos en la técnica y pueden ser llevados a cabo fácilmente por un experto en la técnica. Por ejemplo, la proliferación celular puede ser evaluada midiendo la incorporación de la bromodesoxiuridina (BrdU) (véanse, por ejemplo, Hoshino et al., 1986, *Int. J. Cancer* 38, 369; Campana et al., 1988, *J. Immunol. Meth.* 107:79) o la incorporación de (3H) timidina (véanse, por ejemplo, Blechman et al., *Cell*, 1995, 80:103-113; Chen, J., 1996, *Oncogene* 13:1395-403; Jeoung, J., 1995, *J. Biol. Chem.* 270:18367-73), por recuento celular directo a intervalos temporales diversos (por ejemplo, intervalos de 12 horas o de 24 horas), o detectando cambios en la transcripción, la traducción o la actividad celular de genes conocidos tales como protooncogenes (por ejemplo, fos, myc) o marcadores del ciclo celular (Rb, cdc2, ciclina A, D1, D2, D3, E, etc.). Los niveles de tal proteína y del ARNm y de actividad pueden ser determinados por cualquier método bien conocido en la técnica. Por ejemplo, la proteína puede ser cuantificada mediante métodos inmunodiagnósticos conocidos tales como ELISA, inmunoelectrotransferencia o inmunoprecipitación usando anticuerpos, incluyendo anticuerpos disponibles comercialmente. El ARNm puede ser cuantificado usando métodos que son bien conocidos y rutinarios en la técnica; por ejemplo, usando análisis de tipo Northern, protección de la RNasa, o reacción en cadena de la polimerasa en conexión con la transcripción inversa.

En realizaciones específicas, un método para inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en células (por ejemplo, células cancerosas) que expresan KIT comprende poner las células en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inhibir la proliferación celular en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo de incorporación de la BrdU). En realizaciones específicas, un método para inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en células que expresan KIT comprende poner las células en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inhibir la proliferación celular en al menos aproximadamente 25%, 35%, 45%, 55% o 65%, evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo de incorporación de la BrdU). En realizaciones específicas, un método para una inhibición o una antagonización de la actividad del KIT en células que expresan KIT comprende poner las células en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inhibir la proliferación celular en al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo de incorporación de la BrdU).

En ciertos aspectos, un método proporcionado en la presente memoria para inhibir la actividad del KIT en una célula (por ejemplo, una célula cancerosa) que expresa KIT comprende poner la célula en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para reducir o inhibir la supervivencia de la célula. En la técnica se describen ensayos de supervivencia celular y pueden ser llevados a cabo fácilmente por un experto en la técnica. Por ejemplo, la viabilidad celular puede ser evaluada usando tinción de azul de tripano u otros marcadores de muerte o viabilidad celular conocidos en la técnica. En una realización específica, se mide el nivel de ATP celular para determinar la viabilidad celular. En realizaciones específicas, la viabilidad celular es medida en periodos de tres días y de siete días usando un ensayo estándar en la técnica, tal como el CellTiter-Glo Assay Kit (Promega), que mide los niveles de ATP intracelular. Una reducción en el ATP celular es indicativa de un efecto

citotóxico. En otra realización específica, la viabilidad celular puede ser medida en el ensayo de absorción de rojo neutro. En otras realizaciones, la observación visual en busca de cambios morfológicos puede incluir agrandamiento, granularidad, células con bordes irregulares, aspecto lechoso, esfericidad, desprendimiento de la superficie del pocillo u otros cambios. Estos cambios reciben la designación de T (100% tóxico), PVH (parcialmente tóxico-muy pesado-80%), PH (parcialmente tóxico-pesado-60%), P (parcialmente tóxico-40%), Ps (parcialmente tóxico-ligero-20%), o 0 (sin toxicidad-0%), conforme al grado de citotoxicidad visto. Se determina una concentración inhibitoria (citotóxica) de células del 50% (CI₅₀) mediante análisis de regresión de estos datos.

En realizaciones específicas, un método proporcionado en la presente memoria para inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en células que expresan KIT comprende poner las células en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para reducir o inhibir la supervivencia de las células en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo de exclusión de azul de tripano). En realizaciones específicas, un método proporcionado en la presente memoria para inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en células que expresan KIT comprende poner las células en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para reducir o inhibir la supervivencia de las células en al menos aproximadamente 25%, 35%, 45%, 55% o 65%, evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo de exclusión de azul de tripano). En realizaciones específicas, un método proporcionado en la presente memoria para inhibir la actividad del KIT en células que expresan KIT comprende poner las células en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para reducir o inhibir la supervivencia de las células en al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, el ensayo con azul de tripano).

En una realización específica, un método proporcionado en la presente memoria para inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en células que expresan KIT comprende poner las células en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inducir apoptosis (es decir, la muerte celular programada). En la técnica se describen métodos para detectar la apoptosis y pueden ser llevados a cabo fácilmente por un experto en la técnica. Por ejemplo, puede usarse citometría de flujo para detectar la caspasa 3 activada, una enzima que media en la apoptosis, en células sometidas a apoptosis, o puede usarse inmunoelectrotransferencia para detectar la escisión de la poli(ADP-ribosa) polimerasa (PARP) (véase, por ejemplo, Smolich et al., *Blood*, 2001, 97:1413-1421). La escisión de PARP es un indicador de la apoptosis. En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporciona un método para inhibir o antagonizar la actividad del KIT en células que expresan KIT que comprende poner las células en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inducir o potenciar la apoptosis en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, citometría de flujo para detectar caspasas 3 activadas). En realizaciones específicas, un método proporcionado en la presente memoria para inhibir o antagonizar la actividad del KIT en células que expresan KIT comprende poner las células en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inducir o potenciar la apoptosis en al menos aproximadamente 25%, 35%, 45%, 55% o 65%, evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, citometría de flujo para detectar caspasas 3 activadas). En realizaciones específicas de anticuerpos, un método proporcionado en la presente memoria para inhibir la actividad del KIT en células que expresan KIT comprende poner las células en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inducir o potenciar la apoptosis en al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, citometría de flujo para detectar la caspasa 3 activada).

En una realización específica, un método proporcionado en la presente memoria para inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en una célula que expresa el KIT comprende poner las células en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inducir la diferenciación. En la técnica se describen métodos para detectar la diferenciación y pueden ser llevados a cabo fácilmente por un experto en la técnica. Por ejemplo, puede usarse citometría de flujo para detectar la expresión de uno o más marcadores de diferenciación, o la falta de expresión de uno o más marcadores indiferenciados, en una célula puesta en contacto con un anticuerpo descrito en la presente memoria. De modo similar, también puede usarse la inmunoelectrotransferencia para detectar marcadores de diferenciación. Se han descrito marcadores de diferenciación y marcadores indiferenciados adecuados y son conocidos para un experto en la técnica.

En realizaciones específicas, un método proporcionado en la presente memoria para inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en células que expresan KIT comprende poner las células en contacto con una

cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inducir la diferenciación en al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, citometría de flujo). En realizaciones específicas, un método proporcionado en la presente memoria para inhibir (por ejemplo, inhibir parcialmente) la actividad del KIT en células que expresan KIT comprende poner las células en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inducir la diferenciación en al menos aproximadamente 25%, 35%, 45%, 55% o 65%, evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, citometría de flujo). En realizaciones específicas, un método proporcionado en la presente memoria para inhibir la actividad del KIT en células que expresan KIT comprende poner las células en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo descrito en la presente memoria suficiente para inducir la diferenciación en al menos aproximadamente 1 vez, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces evaluada por métodos descritos en la presente memoria o conocidos para un experto en la técnica (por ejemplo, citometría de flujo).

Ejemplos no limitantes de células que pueden ser diferenciadas por los métodos descritos en la presente memoria incluyen células madre (por ejemplo, células madre embrionarias, células madre hematopoyéticas) y células progenitoras marcadores ejemplares de células madre hematopoyéticas incluyen CD38, CD34, CD59, CD133, Sca-1 y ABCG2. Ejemplos no limitantes de marcadores de células madre neurales incluyen nestina, PSA-NCAM, p75 neurotrofina R y vimentina. Otros ejemplos no limitantes de marcadores de células madre incluyen Oct4, Sox2, Klf4, LIN28, Nanog, SSEA-3, SSEA-4, Notch y Wnt.

5.7 Métodos diagnósticos

Se pueden usar anticuerpos marcados o detectables de otra manera que se unen inmunoespecíficamente a un antígeno de KIT (por ejemplo, a la región D4 de KIT; por ejemplo, del KIT humano) con fines diagnósticos para detectar, diagnosticar o monitorizar una enfermedad asociada con KIT.

En la presente memoria se proporcionan métodos para detectar la expresión de KIT en muestras obtenidas de pacientes con un trastorno o enfermedad asociado con KIT. En una realización particular, un método para detectar la expresión de KIT en una muestra obtenida de un paciente comprende poner la muestra en contacto con un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria y detectar el nivel de expresión de KIT en las muestras, por ejemplo, correlacionando la unión de anticuerpo anti KIT al KIT con niveles de expresión de KIT. Los métodos para la detección son conocidos para un experto en la técnica.

En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporcionan métodos para diagnosticar a un paciente con un trastorno o enfermedad asociado con KIT. En cierto aspecto, un método para diagnosticar a un sujeto con un trastorno o enfermedad asociado con KIT comprende poner en contacto una muestra, obtenida del sujeto, con un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) y detectar el nivel de expresión de KIT en la muestra. En ciertas realizaciones, un método para diagnosticar a un paciente con un trastorno o enfermedad asociado con KIT es un método *in vitro*. En realizaciones particulares, un método para diagnosticar a un paciente con un trastorno o enfermedad asociado con KIT es un método *ex vivo*.

En ciertos aspectos, en la presente memoria se proporcionan métodos para la detección de una enfermedad asociada con KIT que comprende: (a) someter a ensayo la expresión de un antígeno de KIT en células o en una muestra tisular de un sujeto usando uno o más anticuerpos descritos en la presente memoria; y (b) comparar el nivel del antígeno de KIT con un nivel de control —por ejemplo, niveles en muestras tisulares normales (por ejemplo, procedentes de un paciente que no tiene una enfermedad asociada con KIT, o del mismo paciente antes de la aparición de la enfermedad)—, por lo que un aumento en el nivel objeto de ensayo del antígeno de KIT con respecto al nivel de control del antígeno de KIT es indicativo de una enfermedad asociada con KIT.

Los métodos para la detección son conocidos para un experto en la técnica. Por ejemplo, el anticuerpo anti KIT puede ser conjugado con una molécula detectable (por ejemplo, según se describe en la sección 5.1.1), y la molécula detectable puede ser visualizada usando técnicas estándar (por ejemplo, microscopía). Los anticuerpos descritos en la presente memoria pueden ser usados para someter a ensayo los niveles de antígeno de KIT en una muestra biológica usando métodos inmunohistológicos clásicos descritos en la presente memoria o conocidos para los expertos en la técnica (véanse, por ejemplo, Jalkanen et al., 1985, *J. Cell. Biol.* 101:976-985; y Jalkanen et al., 1987, *J. Cell. Biol.* 105:3087-3096). Otros métodos basados en anticuerpos útiles para detectar la expresión génica en proteínas incluyen inmunoensayos, tales como ELISA y el radioinmunoensayo (RIA). En la técnica se conocen marcadores adecuados de ensayo de anticuerpos e incluyen marcadores enzimáticos, tales como la glucosa oxidasa; radioisótopos, tales como yodo (^{125}I , ^{121}I), carbono (^{14}C), azufre (^{35}S), tritio (^3H), indio (^{121}In) y tecnecio (^{99}Tc); marcadores luminiscentes, tales como luminol; y marcadores fluorescentes, tales como la fluoresceína, la rodamina y la biotina. En realizaciones específicas, los métodos diagnósticos descritos en la presente memoria implican el uso de anticuerpos desnudos o no marcados no conjugados con un marcador detectable, y los anticuerpos desnudos o no marcados son detectados indirectamente; por ejemplo, usando un anticuerpo secundario, que puede estar marcado.

En ciertas realizaciones, la expresión elevada de KIT en una muestra con respecto a una muestra normal de control (por ejemplo, una muestra obtenida de un paciente sano que no padece un trastorno o enfermedad asociado con KIT) indica que el paciente padece un trastorno o enfermedad asociado con KIT.

- 5 Un método *in vitro* para diagnosticar a un paciente con un trastorno o enfermedad asociado con KIT, tal como cáncer, en una muestra obtenida de un paciente, comprende poner la muestra en contacto con un anticuerpo anti KIT descrito en la presente memoria y detectar el nivel de expresión de KIT en la muestra. En ciertas realizaciones, la expresión elevada de KIT en una muestra con respecto a una muestra normal de control (por ejemplo, una muestra obtenida de un paciente sano que no padece un trastorno o enfermedad asociado con KIT) indica que el paciente padece un trastorno o enfermedad asociado con KIT.
- 10 En ciertas realizaciones, una muestra puede ser una muestra tumoral derivada del tumor de un paciente o que comprende células tumorales del mismo. En la presente memoria, ejemplos de muestras tumorales incluyen, sin limitación, biopsias de tumores, células tumorales circulantes, proteínas plasmáticas circulantes, líquido ascítico, cultivos de células o líneas celulares primarias derivadas de tumores o que presentan propiedades de tipo tumoral, así como muestras tumorales conservadas, tales como muestras tumorales fijadas en formol incrustadas en parafina o muestras tumorales congeladas. En ciertas realizaciones, una muestra es una muestra tumoral fijada que ha sido conservada histológicamente usando un fijador. En algunas realizaciones, una muestra es una muestra tumoral fijada con formol que ha sido conservada usando formaldehído como fijador. En ciertas realizaciones, una muestra es una muestra tumoral incrustada que está rodeada por un medio firme y generalmente duro, tal como parafina, cera, celoidina o una resina. La incrustación hace posible el corte de secciones delgadas para un análisis microscópico o para la generación de micromatrices tisulares (TMA). En realizaciones particulares, una muestra es una muestra tumoral incrustada en parafina que está rodeada por una mezcla purificada de hidrocarburos sólidos derivados del petróleo. En ciertas realizaciones, una muestra es una muestra tumoral congelada que está o ha sido congelada. En una realización específica, se secciona una muestra; por ejemplo, una muestra incrustada en parafina o una muestra congelada.
- 20
- 25 En ciertos aspectos, una muestra cancerosa o biológica que presenta la expresión, la amplificación o la activación del KIT es aquella que, en una prueba diagnóstica expresa (incluyendo sobreexpresión) un receptor KIT, tiene un gen KIT amplificado, y/o demuestra de otro modo la activación o la fosforilación de un receptor KIT.

- En la presente memoria también se proporciona la detección y el diagnóstico de una enfermedad asociada con KIT en un ser humano. En una realización, el diagnóstico comprende: a) administrar (por ejemplo, parenteral, subcutánea o intraperitonealmente) a un sujeto una cantidad efectiva de un anticuerpo marcado descrito en la presente memoria; b) esperar un intervalo de tiempo tras la administración para permitir que el anticuerpo marcado se concentre preferentemente en sitios en el sujeto en el que se expresa el antígeno de KIT (y a que la molécula marcada no unida se aclare hasta el nivel del segundo plano); c) determinar el nivel del segundo plano; y d) detectar el anticuerpo marcado en el sujeto, de modo que la detección del anticuerpo marcado por encima del nivel del segundo plano indique que el sujeto tiene una enfermedad arbitrada por KIT. El nivel del segundo plano puede ser determinado por diversos métodos, incluyendo la comparación de la cantidad de molécula marcada detectada con un valor estándar determinado previamente para un sistema particular.
- 30
- 35

- En la técnica, se entenderá que el tamaño del sujeto y del sistema de formación de imágenes usado determinará la cantidad del resto de formación de imágenes necesario para producir imágenes de diagnóstico. En el caso de un resto radioisotópico, para un sujeto humano, la cantidad de radiactividad inyectada oscilará normalmente entre aproximadamente 5 y 20 milicurios de ⁹⁹Tc. El anticuerpo marcado se acumulará, preferentemente, en la ubicación de las células que contienen la proteína específica. La formación de imágenes de tumores *in vivo* es descrita en S. W. Burchiel et al., "Immunopharmacokinetics of Radiolabeled Antibodies and Their Fragments" (capítulo 13 de *Tumor Imaging: The Radiochemical Detection of Cancer*, S. W. Burchiel y B. A. Rhodes, ed., Masson Publishing Inc. (1982)).
- 40
- 45

- Dependiendo de varias variables, incluyendo el tipo de marcador usado y del modo de administración, el intervalo de tiempo que sigue a la administración para permitir que el anticuerpo marcado se concentre preferentemente en sitios en el sujeto y para que el anticuerpo marcado no unido se aclare hasta el nivel del segundo plano es de 6 a 48 horas o de 6 a 24 horas o de 6 a 12 horas. En otra realización, el intervalo de tiempo que sigue a la administración es de 5 a 20 días o de 5 a 10 días.
- 50

En una realización, la monitorización de una enfermedad arbitrada por KIT se lleva a cabo repitiendo el método para diagnosticar la enfermedad arbitrada por KIT, por ejemplo, un mes después del diagnóstico inicial, seis meses después del diagnóstico inicial, un año después del diagnóstico inicial, etc.

- La presencia de la molécula marcada puede ser detectada en el sujeto usando métodos conocidos en la técnica para el escaneo *in vivo*. Estos métodos dependen del tipo de marcador usado. Los expertos podrán determinar el método apropiado para detectar un marcador particular. Los métodos y los dispositivos que pueden ser usados en los métodos diagnósticos de la invención incluyen, sin limitación, la tomografía computarizada (TC), un escáner de todo el cuerpo, tal como la tomografía de emisión positrónica (PET), la formación de imágenes por resonancia magnética (IRM) y la sonografía.
- 55

En una realización específica, la molécula es marcada con un radioisótopo y es detectada en el paciente usando un instrumento quirúrgico sensible a la radiación (Thurston et al., patente estadounidense nº 5.441.050). En otra realización, la molécula es marcada con un compuesto fluorescente y es detectada en el paciente usando un instrumento de escaneo sensible a la fluorescencia. En otra realización, la molécula es marcada con un metal emisor de positrones y es detectada en el paciente usando tomografía de emisión positrónica. En otra realización adicional, la molécula es marcada con un marcador paramagnético y es detectada en un paciente usando la formación de imágenes por resonancia magnética (IRM).

6. Ejemplos

Los ejemplos de esta sección (es decir, la sección 6) son ofrecidos a título de ilustración, y no a título de limitación.

6.1 Ejemplo 1: Generación de anticuerpos anti KIT

Los anticuerpos anti KIT fueron diseñados usando tecnología Composite Human Antibody™ (Antitope Ltd., Cambridge, Reino Unido) y la secuencia de aminoácidos del anticuerpo murino 37M (publicación de solicitud de patente estadounidense nº US 2012/0189633 A1) que se une inmunoespecíficamente a una región D4 de KIT humano, para producir anticuerpos anti KIT con secuencias humanas de aminoácidos, uniéndose los anticuerpos a una región D4 de KIT humano. Cinco secuencias de la región variable de cadena pesada (H1, H2, H3, H4 y H5) y cuatro secuencias de la región variable de cadena ligera (L1, L2, L3 y L4) fueron seleccionadas para ser usadas para la síntesis génica, la expresión en células de mamífero y el ensayo en busca de la unión directa a dominios de KIT recombinante, así como de la actividad en el factor de bloqueo de la fosforilación inducida por células madre (SCF). En las Figuras 3A-3I se muestran las secuencias de aminoácidos para H1-H5, L1-L4 y las secuencias de ácidos nucleicos que los codifican.

Las moléculas de ácido nucleico que codifican las secuencias de aminoácidos de la región variable H (de cadena pesada) y L (de cadena ligera) fueron clonadas directamente en vectores de expresión para las cadenas VH humanas y las cadenas Vk humanas de la IgG1. Todos los constructos fueron confirmados por secuenciación. Los vectores que codifican las cadenas VH (H1-H5) y Vk (L1-L4) de IgG1 fueron transfectados a células CHO (por ejemplo, células CHOdhfr-) en diferentes combinaciones para producir veinte anticuerpos (véase la Tabla 4, anticuerpos Hum1-Hum20). Los vectores que codifican el anticuerpo quimérico 37C, un anticuerpo quimérico con dominios constantes humanos y dominios variables murinos 37M (publicación de solicitud de patente estadounidense nº US 2012/0189633 A1) también fueron transfectados a células CHO. Las células transfectadas de forma transitoria con ADN no linealizado fueron incubadas durante cuatro días antes de recoger los sobrenadantes que fueron usados directamente en ensayos o para la purificación. Las transfecciones estables para establecer líneas celulares que expresaran los anticuerpos se llevaron a cabo usando ADN linealizado y fueron seleccionadas subsiguientemente por fármacos. Los sobrenadantes de colonias resistentes a fármacos para cada constructo fueron sometidos a ensayo para una concentración de IgG usando un ELISA de IgG1, y se seleccionaron las líneas con mejor expresión en función de una concentración de IgG en el sobrenadante por encima del segundo plano (habitualmente >0,1 µg/ml), y se expandieron en presencia de una selección de fármacos a través de placas de 24 pocillos y 6 pocillos, matraces de cultivos tisulares T75 y T175, con selección de la expresión de IgG en cada etapa. Las concentraciones de 0,1-1 µg/ml son típicas para líneas celulares CHOdhfr- no optimizadas. La expresión de anticuerpos fue confirmada mediante SDS-PAGE tincionada con azul de Coomassie.

En estas células particulares, la mayoría de los anticuerpos fue expresada con una concentración en el intervalo de 0,1-1,0 µg/ml y, en particular, el anticuerpo Hum4 fue expresado a una concentración de 1,2 µg/ml.

6.2 Ejemplo 2: Afinidad de unión a los dominios D4/D5 de tipo Ig del KIT humano

La afinidad de unión de los anticuerpos anti KIT a los dominios D4/D5 de tipo Ig del KIT del antígeno diana fue evaluada para un ELISA de unión directa. Una serie de diluciones (tres veces) del anticuerpo quimérico 37C y de anticuerpos Hum1-Hum20 de aproximadamente 1×10^{-8} M a $4,7 \times 10^{-13}$ M fue incubada durante 1 hora a temperatura ambiente en una placa de microtitulación de fondo plano recubierta de antemano con dominios D4/D5 de tipo Ig de c-Kit recombinante a 50 ng/pocillo (véase la Figura 2) diluidas en tampón borato y prebloqueadas durante 1 hora con BSA al 1%. El anticuerpo unido fue detectado con Ig-HRP antihumana seguido por una detección usando un sustrato de TMB. Los resultados son presentados a continuación en la Tabla 7.

Tabla 7: Catalogación de la unión de anticuerpos anti KIT.

Anticuerpo	Ensayo nº 1 de actividad de unión relativa (sob)	Ensayo nº 2 de actividad de unión relativa (sob)	Ensayo nº 3 de actividad de unión relativa (purificado)	Ensayo nº 4 de actividad de unión relativa (purificado)
Hum1		0,64		
Hum2		0,79		
Hum3		0,88		

Anticuerpo	Ensayo n° 1 de actividad de unión relativa (sob)	Ensayo n° 2 de actividad de unión relativa (sob)	Ensayo n° 3 de actividad de unión relativa (purificado)	Ensayo n° 4 de actividad de unión relativa (purificado)
Hum4		0,91	1,07	0,83
Hum5		0,93		
Hum6	1,15	0,70		
Hum7	1,12	0,80		
Hum8	1,02	0,62	0,89	0,75
Hum9	1,08	1,00	0,85	
Hum10	1,10	0,88	0,87	0,72
Hum11		0,74		
Hum12	1,23	0,72		
Hum13	1,11	0,78		
Hum14	1,14	1,03	0,74	
Hum15	0,87	0,76	0,87	
Hum16	1,2	1,02		
Hum17	1,17	0,76	0,98	0,72
Hum18	1,22	0,79	0,99	
Hum19	1,11	1,05	0,95	0,85
Hum20	0,80	0,70		
CE ₅₀ (pM) quimérica (duplicados)	380,74±18,3 (×4)	411,66±183,7 (×5)	462,35±28 (×2)	567,76 (×1)

Se calcularon valores de CE₅₀ (pM) para anticuerpos anti KIT Hum1-20, y los valores para los anticuerpos fueron normalizados con los del anticuerpo quimérico 37C en el correspondiente experimento. Los valores mayores indican mayor actividad de unión. Los valores reales de CE₅₀ para el anticuerpo quimérico en cada experimento son mostrados al pie de la tabla junto con el número de duplicados promediados para lograr ese valor. (sob) = sobrenadante que contiene el anticuerpo; (purificado) = anticuerpo purificado del sobrenadante.

La actividad de unión de algunos de los anticuerpos, así como el anticuerpo quimérico 37C, fue catalogada, además, por ELISA en fase sólida usando un antígeno que contiene la región D4/D5 (véase la Figura 2) del KIT humano. A continuación, se describe el protocolo general usado para los experimentos de ELISA en fase sólida.

Materiales:

- 5
 - Antígeno recombinante: Dominios cuatro y cinco de IG recombinante de la región extracelular de KIT
 - TBS-T: 50 mM Tris pH 7,4, 150 mM NaCl, 0,1% Tween 20
 - TBS: 50 mM Tris pH 7,4, 150 mM NaCl
 - Solución de bloqueo: Albúmina de suero bovino 1 (BSA) al 1% en TBS
 - Tampón de disolución: BSA al 1% en TBS-T
- 10
 - Solución de anticuerpos de detección: Anticuerpo de HRP de cabra anti IgG de ratón y conjugado de Pierce de cabra específico anti F(ab')₂ humano con peroxidasa de rábano picante (Thermo scientific 31414)
 - Sustrato de detección: Equipo de reactivos de sustrato de TMB (3,3',5,5' - tetrametilbencidina) (Thermo scientific n° 34021)

- 15 El antígeno recombinante correspondiente a la región D4/D5 del dominio extracelular de KIT (véase la Figura 2) fue absorbido en placas de microtitulación de 96 pocillos. En particular, se diluyó antígeno recombinante (5 µg) en 10 mL de tampón borato, y se añadieron 100 µL de la solución de antígeno a cada pocillo de una placa de 96 pocillos y fueron incubados a 4°C de un día para otro.

Se prepararon disoluciones en serie de muestras de anticuerpos con tampón de disolución para ELISA.

- 20 ELISA: Tras un enjuague con TBS-T, se añadió tampón de bloqueo (200 µL) a cada pocillo de la placa con el antígeno adsorbido y se incubó a temperatura ambiente durante una hora. A continuación, se retiró el tampón de

bloqueo, y se añadieron a la placa las disoluciones diluidas en serie de anticuerpos de prueba y controles en un volumen de 50 μL y se incubaron a temperatura ambiente durante una hora. Las disoluciones de anticuerpos fueron retiradas, y la placa fue lavada tres veces con 100 μL de tampón de lavado en una lavadora de microplacas. Después del último lavado, la placa fue secada con papel secante. Una solución secundaria de anticuerpos fue diluida a 1:8000 y fue añadida a cada pocillo en un volumen de 100 μL y dejada incubarse durante una hora a temperatura ambiente. La solución secundaria de anticuerpos fue retirada, y la placa fue lavada tres veces con 100 μL de tampón de lavado en una lavadora de microplacas. A continuación, se añadió sustrato de TMB recién mezclado a cada pocillo en un volumen de 100 μL y se dejó incubarse a temperatura ambiente durante 30 minutos. Subsiguientemente, se añadieron 100 μL de 2N H_2SO_4 a cada pocillo e inmediatamente se leyó en el lector de placas. Un anticuerpo irrelevante hizo de control negativo, y un anticuerpo anti KIT contra los dominios D4 y/o D5 de la región extracelular de KIT hizo de control positivo. Se obtuvieron valores OD con una longitud de onda de 450 nm.

Los resultados fueron analizados usando GraphPad Prism y Excel para obtener la concentración de anticuerpos en una unión del 50% al antígeno.

La Figura 5 representa un gráfico que traza OD_{450} en función de la concentración (M) logarítmica de anticuerpos anti KIT. Se calculó que la concentración efectiva en una unión del 50% (CE_{50}) para la afinidad de unión de una quimera del anticuerpo 37M y los anticuerpos Hum17, Hum8, Hum4 y Hum10 a la región D4/D5 del KIT humano era aproximadamente 12 pM, 6,6 pM, 11 pM, 7,5 pM y 23 pM, respectivamente.

Los resultados presentados en la Figura 5 muestran que las afinidades de unión de una quimera del anticuerpo 37M y de los anticuerpos Hum17, Hum8, Hum4, and Hum10 son comparables.

Ensayos de unión adicionales demostraron que Hum17, Hum8, Hum4 y Hum10 presentaban unión específica al KIT canino y al KIT de mono, además de al KIT humano, pero no presentaban unión específica al KIT murino.

6.3 Ejemplo 3: Afinidad de unión de anticuerpos anti KIT hacia el KIT humano expresado en células CHO

Para confirmar que los anticuerpos anti KIT pueden unirse al KIT expresado en la superficie de las células, se llevaron a cabo ensayos de citometría de flujo usando células CHO que expresan (CHO/KIT-WT) y no expresan (células precursoras CHO) exógenamente el receptor KIT humano de longitud máxima de la forma natural. Sucintamente, se lavaron e incubaron células CHO y células CHO/KIT-WT con 0,01 nM, 0,1 nM, 1 nM o 10 nM de un anticuerpo quimérico (humano-murino) 37M, anticuerpo Hum17, Hum8, Hum4 o Hum10, un anticuerpo IgG isotípico de control negativo o un anticuerpo comercial anti KIT como control positivo. Las muestras fueron procesadas para su análisis por citometría de flujo. Más específicamente, las células fueron retiradas de los matraces de cultivo usando EDTA, y lavadas con PBS. A continuación, las células fueron resuspendidas en caldos y contadas. Cada muestra, que contenía aproximadamente de 200.000 a 250.000 células, fue centrifugada, se retiraron los caldos y las células fueron resuspendidas en tampón FC (1% BSA, 0,01% azida de sodio en 1xPBS) para la etapa de bloqueo. Las células fueron incubadas en tampón FC durante 1 hora sobre hielo. A continuación, se añadió anticuerpo primario (por ejemplo, un anticuerpo quimérico (humano-murino) 37M, Hum17, Hum8, Hum4, Hum10, un anticuerpo anti KIT de control positivo, o un anticuerpo de control negativo) a las células en tampón FC según se ha descrito anteriormente. Las muestras fueron mezcladas e incubadas sobre hielo durante 1 hora, seguido por el lavado de las células con 0,5-1 mL de tampón FC. El tampón FC fue eliminado por centrifugación de las células a 1200 rpm durante 3 minutos a 4°C, decantando el líquido. Los sedimentos celulares fueron resuspendidos en 200 μL de tampón FC, y se añadió anticuerpo secundario (DyLight 488 AffiniPure Goat Anti-Mouse IgG Jackson Laboratories) a las células en una disolución 1:1000 a 1:2000. Las muestras fueron mezcladas e incubadas sobre hielo durante 1 hora, y luego lavadas según se ha descrito anteriormente. Las muestras fueron pasadas por una máquina de clasificación celular activada por fluorescencia (FACS) (Accuri FlowCytometer C6). Las muestras fueron analizadas siguiendo el canal FLA-1 para las muestras conjugadas con DyLight.

La Figura 6 resume los resultados del análisis por citometría de flujo. Se calculó que la concentración efectiva en una unión del 50% (CE_{50}) para la afinidad de unión de una quimera (humana-murina) del anticuerpo 37M y los anticuerpos Hum17, Hum8, Hum4 y Hum10 a la región D4/D5 del KIT humano era aproximadamente 47 pM, 139 pM, 83 pM, 106 pM y 132 pM, respectivamente.

Los resultados presentados en la Figura 6 muestran que las afinidades de unión del anticuerpo quimérico 37M y de los anticuerpos Hum17, Hum8, Hum4 y Hum10 hacia el KIT humano expresado en la superficie celular son comparables.

6.4 Ejemplo 4: Inhibición de la fosforilación del KIT inducida por SCF en ensayos de fosfo-KIT de tipo celular

La inhibición de la fosforilación del KIT de la superficie celular arbitrada por el factor de células madre (SCF) por parte del anticuerpo quimérico 37M anti KIT y ciertos anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria fue evaluada como sigue en un ensayo de tipo celular: se cultivaron de un día para otro células CHO-KIT, clasificadas buscando una alta expresión de antígeno en la superficie celular, en placas de 24 pocillos o de 96 pocillos en ausencia de suero antes de la adición de una serie de triple disolución de 1×10^{-8} M - $1,4 \times 10^{-11}$ M de anticuerpo de

prueba (anticuerpos quiméricos o anti KIT descritos en la presente memoria purificados del sobrenadante) o de anticuerpo de bloqueo de control (BioLegend, clon A3C6E2).

Tras una incubación durante 2 horas a 37°C, las células fueron estimuladas con 30 ng/mL de SCF (R&D Systems, nº cat. 255-SC/CF) durante 10 min a 37°C, lisadas en presencia de inhibidores de la proteasa y la fosfatasa, y la proteína KIT fue capturada de los lisados enteros en placas Maxisorp de 96 pocillos de paredes blancas recubiertas de antemano con anticuerpo de captura de KIT (Thermo Scientific, nº cat. LVMS289-PABX). Para el formato de 96 pocillos, se dispusieron pocillos duplicados para cada condición y fueron lisados y transfectados por separado a la placa de captura mientras que, para el formato de 24 pocillos, las muestras duplicadas de lisado fueron tomadas del mismo pocillo. Tras una incubación de un día para otro a 4°C y un lavado exhaustivo de la placa se detectó KIT fosforilado con tirosina usando el clon 4G10 anti-fosfotirosina (Millipore, nº cat. 16-105) conjugado con HRP y sustrato quimioluminiscente West PICO (Fisher, nº cat. PN34087). Los resultados se presentan en la Tabla 8 a continuación.

Tabla 8: Ensayos de bloqueo

Anticuerpo	Actividad de bloqueo relativo, ensayo nº 1 (24 pocillos)	Actividad de bloqueo relativo, ensayo nº 2 (24 pocillos)	Actividad de bloqueo relativo, ensayo nº 3 (96 pocillos)	Actividad de bloqueo relativo, ensayo nº 4 (96 pocillos)
Hum4		1,2		0,86
Hum8			1,01	1,12
Hum9			1,05	
Hum10		0,82		0,86
Hum13			1,00	
Hum14		0,94		
Hum15	0,98		0,99	
Hum17		1,39		1,07
Hum18		1,22		
Hum19	1,09		0,98	1,40
Se calcularon valores CI_{50} (pM) para estos anticuerpos y los valores para los anticuerpos fueron normalizados con los del anticuerpo quimérico 37M en el correspondiente experimento. Los valores mayores indican mayor actividad de bloqueo. "(96 pocillos)" se refiere a ensayos llevados a cabo en un formato de placa de 96 pocillos, en contraposición con el formato de 24 pocillos (24 pocillos).				

Los resultados de la Tabla 8 muestran que las actividades de bloqueo de los anticuerpos Hum4, Hum8, Hum9, Hum10, Hum13, Hum14, Hum15, Hum17, Hum18 y Hum19 son comparables a la actividad de bloqueo de una quimera del anticuerpo 37M.

Para caracterizar adicionalmente el efecto de estos anticuerpos en la actividad del KIT, específicamente, de la fosforilación de la tirosina del dominio citoplasmático de KIT inducida por SCF, se llevaron a cabo como sigue ensayos fosfo-KIT de tipo celular.

Materiales:

- Células CHO transfectadas de manera estable con un plásmido que codifica el KIT humano de longitud máxima (véase la Figura 1), que fue clonado de una biblioteca de ADNc de ovario humano (OriGene, Rockville, Maryland)
- Caldos completos de cultivo celular (véase la Tabla 9)
- Caldos de inanición: Caldos de cultivo celular descritos en la Tabla 9 sin FBS
- Tripsina-EDTA
- PBS
- Solución de SCF: rhSCF (RD Systems 255-SC/CF); concentración final 30 ng/mL
- Tampón de lisis: 50 mM Tris pH 7,4, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1% Triton X-100, cóctel inhibidor de la proteasa libre de EDTA (Roche Diagnostics 04693132001), 1 mM $NaVO_4$
- TBS-T: 50 mM Tris pH 7,4, 150 mM NaCl, 0,1% Tween 20
- Solución de bloqueo: Albúmina de suero bovino (BSA) al 5% en TBS-T
- Tampón de disolución : BSA al 1% en TBS-T que contiene 1 mM $NaVO_4$

- Solución de anticuerpos de detección: anticuerpo anti-fosfo-tirosina conjugado con peroxidasa de rábano picante (Millipore, 4G10); factor de disolución 1:500
- Anticuerpo de captura: anticuerpo anti KIT Ab3 de Thermo Scientific (MS-289-PABX)

Tabla 9: Medios de cultivo celular

Línea celular	CHO (precursora o transfectada con KIT)
Caldo básico	Mezcla nutriente Gibco F12 (Ham) 1X 11765
Penicilina/estreptomicina (Cellgro 30-001-CI)	50 IU/mL penicilina
	50 µg/mL estreptomicina
100X GlutaMAX™-I (Gibco 35050)	1X GlutaMAX™
Geneticina (Invitrogen 10131027)	1 mg/mL geneticina (únicamente para la selección de células transfectadas)

- 5 Paso de las células CHO/KIT-WT: Las células confluentes fueron lavadas una vez con PBS estéril, incubadas con Tripsina-EDTA al 0,25% a temperatura ambiente hasta que las células se separaron de las placas plásticas de cultivo tisular. Se añadió a la placa caldo completo de cultivo, que contiene FBS, para finalizar la digestión trípica.

- 10 Recuento de células: Se mezclaron 10 µL de suspensión celular con 10 µL de azul de tripano al 0,4%. La mitad de esta mezcla (10 µL) fue transferida a una cámara de recuento celular (Invitrogen), y las células fueron contadas. Las células (200.000 por pocillo) fueron transferidas a una placa de cultivo celular de 24 pocillos, y fueron cultivadas en un caldo completo (Tabla 9) durante 24 horas en condiciones normales de cultivo celular (es decir, en aire humectado al 95% y en una atmósfera con un 5% de CO₂ a 37°C).

- 15 Tratamiento de las células: Después de que las células fueron puestas en las placas de 24 pocillos y cultivadas de un día para otro, el medio fue retirado, y la monocapa de células fue lavada una vez con un caldo de inanición. A continuación, las células fueron cultivadas durante 24 horas en el caldo de inanición en condiciones normales de cultivo celular. Acto seguido, las células fueron tratadas con un anticuerpo quimérico (humano-murino) 37M, soluciones de anticuerpo Hum4, Hum8, Hum10, Hum17 o de control durante 2 horas en condiciones normales de cultivo celular. La concentración final para la solución de anticuerpos fue de 100 nM (5 µg/mL) o menos. Subsiguientemente, se añadió una solución de SCF a las células pretratadas con anticuerpos anti KIT o con anticuerpo de control a una concentración final de 30 ng/mL durante 10 minutos en condiciones normales de cultivo celular.

Controles:

- Controles negativos: células sometidas a inanición, no tratadas y no estimuladas
- Control positivo: células sometidas a inanición, no tratadas y estimuladas con SCF
- Control farmacológico: células sometidas a inanición, tratadas con 1 µM de Gleevec y estimuladas con SCF
- Control de anticuerpos: células sometidas a inanición, tratadas con 100 nM de anticuerpo de bloqueo (anticuerpo murino purificado anti KIT humano (BioLegend A3C6E2) que se une al sitio de unión del SCF)

Preparación de lisados celulares: Tras la estimulación, las células de la placa de 24 pocillos fueron puesta sobre hielo inmediatamente; las células fueron lavadas una vez con PBS frío, y lisadas con 100 µL de tampón de lisis frío.

- 30 Preparación de una placa ELISA de 96 pocillos con anticuerpo de captura: Se diluyó un anticuerpo de captura (5 µL) en 10 mL de tampón borato 50 mM, y la solución de anticuerpo de captura (100 µL o 50 ng/pocillo) fue añadida a cada pocillo de la placa ELISA de 96 pocillos. La placa de 96 pocillos fue incubada a temperatura ambiente durante 5-6 horas o de un día para otro a 4°C. La solución de anticuerpo de captura fue retirada antes de la etapa de bloqueo. El bloqueo se llevó a cabo añadiendo 100 µL de solución de bloqueo a cada pocillo y dejando incubar a temperatura ambiente durante 1 hora. La solución de bloqueo fue retirada, los pocillos fueron lavados una vez con tampón de disolución, y se añadieron a cada pocillo 50 µL de tampón de disolución.

- 40 Ensayo de fosfo-KIT: Se transfirieron 50 µL de los lisados celulares de cada muestra desde un pocillo de la placa de 24 pocillos a 1 pocillo de la placa preparada de 96 pocillos que contenía 50 µL de tampón de disolución, y la placa de 96 pocillos fue incubada de un día para otro a 4°C. Tras la incubación durante la noche, el sobrenadante fue retirado, y la placa fue lavada 3 veces (con una incubación de 5 minutos cada vez) con TBS-T. Se añadió una disolución de anticuerpos de detección (100 µL) a cada pocillo y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente en la oscuridad. La placa fue lavada 3 veces con TBS-T, lavada una vez con TBS, y el TBS fue retirado. Se mezclaron (1:1) los reactivos del "SuperSignal West Dura Extended Duration Substrate" (Thermo Scientific), y se añadieron a cada pocillo 100 µL de la mezcla.

Se detectó la luminiscencia en el lector de placas ELISA usando el protocolo “Luminescence Glow” de GEN5™ y los datos fueron analizados usando Microsoft Excel.

La Figura 7 muestra un gráfico que representa los datos de estos experimentos. El gráfico es un trazado de unidades de luminiscencia arbitrarias en función de la concentración logarítmica (M) ya sea de una quimera (humana-murina) del anticuerpo 37M o de anticuerpo Hum17, Hum8, Hum4 o Hum10. Se calculó que las concentraciones de inhibición al 50% (CI₅₀) de la quimera 37M y de los anticuerpos Hum17, Hum8, Hum4 y Hum10 eran aproximadamente 344 pM, 510 pM, 542 pM, 470 pM y 510 pM, respectivamente. Los resultados indican que los anticuerpos Hum17, Hum8, Hum4 y Hum10, como el anticuerpo quimera 37M, son inhibidores efectivos de la fosforilación de la tirosina del dominio citoplasmático de KIT inducida por un ligando (SCF).

Estos anticuerpos anti KIT pueden ser expresados en diversos tipos de células diferentes sin afectar sustancialmente a las propiedades del anticuerpo; por ejemplo, a la actividad de unión y a la actividad de bloqueo. Por ejemplo, se expresaron anticuerpos anti KIT Hum17, Hum8, Hum4 y Hum10 en un sistema de expresión recombinante diferente basado en células HEK293-Freestyle (293F), y presentaron actividad de bloqueo según determinaron ensayos de inhibición de la fosforilación del KIT. Estos resultados indican que se pueden usar diversos sistemas celulares para expresar los anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria, tales como anticuerpos Hum1-Hum20, sin comprometer la actividad de los anticuerpos.

6.5 Ejemplo 5: Internalización de anticuerpos por células CHO que expresan el KIT de la forma natural

Se llevaron a cabo ensayos de tinción de inmunofluorescencia para evaluar la internalización de anticuerpos Hum4, Hum10, Hum17 y Hum8 por células CHO que expresaban el KIT de la forma natural (“CHO/KIT-WT”).

Los ensayos de tinción de inmunofluorescencia fueron llevados a cabo esencialmente según se describe a continuación. Los materiales y los reactivos para los ensayos de inmunofluorescencia incluyeron lo siguiente:

- Anticuerpos primarios: anticuerpos Hum4, Hum8, Hum10, Hum17, 37M y anticuerpo monoclonal (mAb) de conejo β -Tubulina (9F3) (Cell Signaling nº 2128).
- Anticuerpos secundarios: anticuerpo de cabra anti ratón conjugado con Oregon Green® 488 (Invitrogen nº 011038), anticuerpo de cabra anti conejo conjugado con Texas Red (Invitrogen nº T2767), y anticuerpo de cabra anti humano conjugado con Alexa Fluor 488 (Invitrogen nº A11013).
- Fijador: paraformaldehído (PFA) al 4% (almacenar PFA de calidad de microscopía al 40% en la nevera y diluir 1:10 con PBS inmediatamente antes de su uso)
- Solución de permeabilización: PBS con Triton X-100 al 0,1% y BSA al 0,5%, filtrado de forma estéril
- Solución de bloqueo/disolución: BSA al 2% en PBS, filtrado de forma estéril
- Medios de montaje: reactivo antipérdida de fluorescencia ProLong® Gold con DAPI (P36931 Invitrogen) (4',6-diamidino-2-fenilindol)
- Células CHO diseñadas para expresar KIT humano exógeno del tipo natural (longitud máxima) (“CHO/KIT-WT”)

Se sembraron células CHO (por ejemplo, 75.000 células por pocillo) en una placa de cultivos tisulares de 24 pocillos que contenía un cubreobjetos redondo de vidrio por pocillo. Las células fueron cultivadas durante al menos 6 horas antes de someterlas a inanición de un día para otro en caldo que no contenía nada de suero fetal bovino. Tras el sometimiento a inanición, se retiró de las células el caldo de cultivo y el anticuerpo 37M, Hum4, Hum10, Hum17 o Hum8 diluido hasta 33,3 nM en caldo de inanición que contenía un 1% de albúmina de suero bovino, fue transferida a la capa celular en el instante 0 minutos, 30 minutos, 45 minutos o 55 minutos para generar una evolución temporal. Las células fueron incubadas durante los tiempos indicados en condiciones estándar de cultivo (37°C y 5% de CO₂). Las capas de células fueron lavadas una vez con PBS (a temperatura ambiente) de 5 a 60 minutos después de la adición del anticuerpo. Las capas de células fueron fijadas durante 20 minutos con PFA al 4% a temperatura ambiente, y fueron lavadas 3 veces con PBS. Las membranas celulares fueron permeabilizadas mediante la adición de una solución de permeabilización durante 3 minutos seguido por 3 lavados con PBS. Se añadió solución de bloqueo a cada pocillo, y las células fueron bloqueadas durante 20 minutos a temperatura ambiente. El mAb de conejo β -Tubulina (9F3) fue diluido a 1:100 en solución de disolución e incubado con las capas celulares durante 1 hora a temperatura ambiente seguido por 2 lavados con PBS y uno con la solución de bloqueo. Ambos anticuerpos secundarios fueron diluidos juntos a 1:200 en una solución de disolución antes de ser añadidos a las células. Las células fueron incubadas en anticuerpo secundario en la oscuridad a temperatura ambiente durante 1 hora seguido por 3 lavados con PBS. Las células de los cubreobjetos fueron montadas en los portaobjetos de vidrio usando una gota de reactivo antipérdida de fluorescencia ProLong® Gold con DAPI y fueron mantenidas a temperatura ambiente de un día para otro. La internalización del anticuerpo fue analizada por microscopía por fluorescencia en diversos momentos; por ejemplo, 5 minutos y 60 minutos de exposición al anticuerpo 37M, Hum4, Hum10, Hum17 o Hum8.

Los ensayos de tinción de inmunofluorescencia demostraron que, en células CHO/KIT-WT, los anticuerpos Hum4, Hum10, Hum17 y Hum8, de forma similar al anticuerpo 37M, se unían a la superficie de estas células, y eran internalizados por estas células. En particular, las imágenes de células expuestas a estos anticuerpos muestran la tinción de estructuras asociadas con la membrana en momentos tempranos, tales como 5 minutos después de la

exposición a anticuerpos anti KIT, y muestran la tinción de estructuras internas (por ejemplo, vesículas) en momentos posteriores, tales como 60 minutos después de la exposición al anticuerpo. En cambio, las imágenes de células expuestas con anticuerpo anti- β -Tubulina, como control, mostraban una tinción de estructuras alargadas en todo el citoplasma de las células. Estos resultados indican que los anticuerpos Hum4, Hum10, Hum17 y Hum8 son internalizados por las células que expresan KIT. La internalización efectiva de anticuerpos es útil, por ejemplo, para suministrar toxinas a células —por ejemplo, células cancerosas— que expresan KIT.

6.6 Ejemplo 6: Datos de estabilidad

El desarrollo con éxito de anticuerpos terapéuticos depende, en parte, de la calificación de la estabilidad de los anticuerpos *in vivo*. Con este fin, se calificó la estabilidad térmica relativa y la estabilidad relativa en condiciones fisiológicas imitadas (es decir, suero, 37°C) de un subconjunto de anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria.

Calorimetría de barrido diferencial:

La calorimetría de barrido diferencial (DSC) es una técnica termoanalítica usada para determinar el punto en el que una muestra de interés experimenta una transición de fase, tal como la fusión o la cristalización. Por lo tanto, la DSC es una herramienta útil para comparar la estabilidad térmica relativa de múltiples anticuerpos. Con este fin, se analizó un subconjunto de anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria (por ejemplo, anticuerpos Hum1-Hum20) usando DSC, y se determinaron las temperaturas de fusión de estos anticuerpos. Los perfiles de fusión de cada anticuerpo anti KIT revelaron un pico principal de fusión, y uno o dos picos menores. Los puntos de fusión preponderantes oscilaban entre 85,7°C y 86,6°C, mientras que se calculó que los de los picos menores estaban en 71,6°C-71,9°C. Estos resultados, que muestran que las temperaturas de fusión son significativamente superiores a 37°C, indican que estos anticuerpos anti KIT pueden ser estables en un contexto terapéutico; por ejemplo, a 37°C.

Estabilidad sérica:

Para entender mejor la estabilidad de los anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria en condiciones fisiológicas, la actividad de los anticuerpos fue evaluada tras una incubación a largo plazo en suero fetal bovino a 37°C. Sucintamente, los anticuerpos anti KIT fueron diluidos hasta 0,2 mg/mL en caldo libre de suero o en caldo que contenía suero fetal bovino al 50%. Las muestras fueron incubadas a 37°C durante 1, 2 y 3 semanas, momento en el que se compararon partes alícuotas con un anticuerpo almacenado a 4°C durante la misma duración en ensayos tanto ELISA de unión como de fosforilación celular, según se ha descrito en ejemplos anteriores. Usando el anticuerpo a 4°C como referencia, los ensayos ELISA de unión revelaron que, tras una semana, el cambio máximo en el valor CE_{50} era de 4 veces, pero podía bajar hasta 1,1 veces, mientras que, después de dos semanas, el cambio máximo era de 4 veces, usando el anticuerpo a 4°C como control. Sistemáticamente, los valores CI_{50} en los ensayos de fosforilación celular para estos mismos anticuerpos anti KIT almacenados a 37°C con o sin suero variaron en menos de dos veces de los de los anticuerpos almacenados a 4°C.

Juntos, estos datos sugieren una estabilidad a largo plazo de los anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria, ya que la actividad de unión y de bloqueo de cada anticuerpo se mantiene tras la incubación tanto en suero como a temperatura elevada. Estos resultados indican que los anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria (por ejemplo, Hum1-Hum20) pueden presentar una actividad mantenida y pueden ser usados, por ejemplo, en una posología menos frecuente.

6.7 Ejemplo 7: Bloqueo de la fosforilación de AKT inducida por ligandos

Los anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria (por ejemplo, Hum1-Hum20) son sometidos a ensayo para encontrar su capacidad de inhibir o bloquear la fosforilación de AKT, que es un evento de señalización aguas debajo de la señalización de KIT. El ensayo se lleva a cabo según se ha descrito anteriormente con las modificaciones siguientes. En primer lugar, se inmoviliza un anticuerpo murino anti AKT en placas ELISA como anticuerpo de captura. En segundo lugar, la detección de la fosforilación de AKT (fosfo-AKT) se lleva a cabo usando un método en dos etapas. Después de la incubación de los lisados celulares con la placa ELISA recubierta, se añade a cada pocillo un anticuerpo monoclonal murino biotinilado que reconoce fosfo-AKT (Ser473) durante 1 hora a temperatura ambiente con una disolución de 1:500. Tras esta incubación y los posteriores lavados, el anticuerpo fosfo-AKT es detectado con anticuerpo Protein Western C Streptavidin-HRP (BioRad) a una disolución de 1:2500. La etapa de detección final con solución de sustrato de TMB se lleva a cabo según se ha descrito en la presente memoria (por ejemplo, en las secciones 6.2 y 6.4).

6.8 Ejemplo 8: Estudio de modelo animal de anticuerpos anti KIT en el tratamiento del cáncer

Los efectos antitumorales de los anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria se confirman usando modelos murinos, tales como modelos murinos de xenotrasplante, de tumores humanos. Se han descrito diversos modelos murinos para el estudio del cáncer (véase, por ejemplo, Fernández et al., *J. Clin. Invest.*, 2007, 117(12):

4044-4054). Más abajo, se describen modelos murinos —por ejemplo, modelos murinos de xenotrasplante— derivados de diversas líneas celulares humanas derivadas de pacientes. Más abajo también se describen modelos murinos para evaluar la toxicidad.

Tumor estromal gastrointestinal (GIST)

- 5 Se han descrito modelos murinos de GIST; véase, por ejemplo, Fernández et al, *J. Clin. Invest.*, 2007, 117(12): 4044-4054. Por ejemplo, se recogen células de GIST de cultivos subconfluentes mediante una breve exposición a tripsina-EDTA (Invitrogen) al 0,05%. Se detiene la tripsinización con un caldo que contiene FBS al 10%. Las células son entonces lavadas dos veces en caldo libre de suero y resuspendidas en HBSS libre de suero (Invitrogen). Para las inyecciones se usan suspensiones monocelulares con una viabilidad superior al 95%, determinada por exclusión de azul de tripano. Para producir tumores, se inyectan subcutáneamente de 1×10^5 a 1×10^7 células de GIST, por ejemplo 6×10^6 células de GIST por cada 100 μ l en el costado unilateral de cada ratón SCID (por ejemplo, ratones C.B-17/IcrHsd-Prkdc^{SCID} hembra comprados en Harlan Sprague Dawley Inc.; alojados en instalaciones autorizadas por la Asociación Estadounidense para la Evaluación y la Acreditación del Cuidado Animal en Laboratorios, el Departamento de Agricultura de Estados Unidos, el Departamento de Salud y Servicios Sociales de los Estados Unidos y los NIH, y según los criterios de esos organismos; y usados según directrices institucionales). Se usan de cinco a diez ratones por grupo en los grupos de vehículo y de anticuerpos anti KIT. Una vez que los tumores son palpables (por ejemplo, aproximadamente a las 8-11 semanas desde la inyección), se pone a los ratones en una terapia con inyecciones de suero fisiológico normal (vehículo) o de anticuerpos anti KIT (por ejemplo, anticuerpos Hum1-Hum20 o conjugados anticuerpo-fármaco de los mismos); por ejemplo, inyecciones intraperitoneales diarias, semanales o bisemanales. El tratamiento continúa un periodo de tiempo —por ejemplo, aproximadamente 6 semanas— con mediciones bidimensionales semanales del tamaño del tumor. También se pueden usar métodos de formación de imágenes para detectar el tamaño del tumor; por ejemplo, IRM. Todos los ratones son sacrificados cuando el tamaño del tumor se acerca aproximadamente a 1,5 cm en el grupo de control. Los tumores son recogidos, fijados en formol, y son analizados por tinción con H&E. Se toman imágenes representativas de cada tumor usando un microscopio óptico con $\times 40$ y $\times 100$ aumentos.

Se genera un gráfico del tamaño o el volumen del tumor de cada ratón trazado en función del tiempo (por ejemplo, días o semanas) después de la inyección del tumor para comprobar el efecto de los anticuerpos anti KIT en el desarrollo del tumor en los ratones con respecto al control negativo del vehículo.

- 30 Ejemplos no limitantes de células de GIST que pueden usarse en estos modelos murinos incluyen células GIST 430 (células GIST humanas que expresan un KIT mutado que tiene una delección del exón 11 (V560-L576) y una mutación de V654A en el exón 13) y células GIST882 (células GIST inmortales que posee una mutación de aminoácido en el exón homocigótico 13 (es decir, K642E) en KIT (véase, por ejemplo, Tuveson et al., *Oncogene*, 2001, 20: 5054 -5058)).

Leucemia

- 35 Para estudiar los efectos de los anticuerpos anti KIT en la leucemia, se establece un modelo murino de xenotrasplante usando células de leucemia humana (por ejemplo, células K562, HEL o HL60) esencialmente como se ha descrito más arriba, salvo que se inyectan células de leucemia (por ejemplo, células K562, HEL o HL60) en los ratones en lugar de células GIST. En particular, las células tumorales son recogidas de suspensiones subconfluentes. Para producir tumores, se inyectan subcutáneamente de 1×10^5 a 1×10^7 células tumorales por cada 100 μ l en cada ratón SCID. A continuación, los ratones son distribuidos de forma aleatoria en los siguientes grupos (n = 5-10 por grupo): (a) suero fisiológico normal a diario; y (b) anticuerpos anti KIT (por ejemplo, anticuerpos Hum1-Hum20 o conjugados anticuerpo-fármaco de los mismos). Se pone a los ratones en una terapia (por ejemplo, el día 0, 7 o 14 o cuando los tumores sean detectables) con inyecciones de suero fisiológico normal (vehículo) o anticuerpos anti KIT (por ejemplo, inyecciones intraperitoneales diarias, semanales o bisemanales). El tratamiento continúa un periodo de tiempo —por ejemplo, aproximadamente 6 semanas— con mediciones bidimensionales semanales del tamaño del tumor. También se pueden usar métodos de formación de imágenes para detectar el tamaño del tumor; por ejemplo, IRM. Los tumores son medidos semanalmente durante el tratamiento y en la necropsia.

- 50 Se genera un gráfico del tamaño o el volumen del tumor de cada ratón trazado en función del tiempo (por ejemplo, días o semanas) después de la inyección del tumor para comprobar el efecto de los anticuerpos anti KIT en el desarrollo del tumor en los ratones con respecto al control negativo del vehículo.

- También se pueden generar modelos murinos de la leucemia humana inyectando células de leucemia humana en ratones desnudos o ratones irradiados, a través de otras vías, tales como la vía intravenosa, y monitorizando la muerte del animal como una indicación del avance de la leucemia en presencia o ausencia de tratamiento con anticuerpos anti KIT. Se genera una curva de supervivencia para cada ratón para comprobar el efecto de los anticuerpos anti KIT en la supervivencia.

Cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer microcítico de pulmón)

Se establece un modelo murino de xenotrasplante usando células cancerosas de pulmón humano —por ejemplo, células de carcinoma microcítico de pulmón humano (por ejemplo, células H526, células WBA o células NCI-H209)— esencialmente según se ha descrito anteriormente, salvo algunas modificaciones. Por ejemplo, en los ratones se inyectan células cancerosas de pulmón (por ejemplo, células de cáncer microcítico de pulmón) en lugar de células GIST. Se recogen células cancerosas de pulmón —por ejemplo, células tumorales H526— y se inyectan de 1×10^5 a 1×10^7 células cancerosas de pulmón por cada 100 μ l en cada ratón (por ejemplo, ratones SCID). A continuación, los ratones son distribuidos de forma aleatoria en los siguientes grupos (n = 5-10 por grupo): (a) suero fisiológico normal a diario; y (b) anticuerpos anti KIT (por ejemplo, anticuerpos Hum1-Hum20 o conjugados anticuerpo-fármaco de los mismos). Se pone a los ratones en una terapia (por ejemplo, el día 0, 7 o 14 o cuando los tumores sean detectables) con inyecciones (por ejemplo, inyecciones intraperitoneales diarias, semanales o bisemanales) de suero fisiológico normal (vehículo) o anticuerpos anti KIT. El tratamiento continúa un periodo de tiempo (por ejemplo, aproximadamente 6 semanas o más), con mediciones bidimensionales semanales del tamaño del tumor. También se pueden usar métodos de formación de imágenes para detectar el tamaño del tumor; por ejemplo, IRM. Los tumores son medidos semanalmente durante el tratamiento y en la necropsia.

Se genera un gráfico del tamaño o el volumen del tumor de cada ratón trazado en función del tiempo (por ejemplo, días o semanas) después de la inyección del tumor para comprobar el efecto de los anticuerpos anti KIT en el desarrollo del tumor en los ratones con respecto al control negativo del vehículo. Se genera una curva de supervivencia para comprobar el efecto de los anticuerpos anti KIT (por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado del mismo) en la supervivencia de los animales.

Se han descrito modelos murinos para el cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer microcítico de pulmón) (véanse, por ejemplo, Garton et al., 2006, *Cancer Res.* 66(2):1015-24; y Wolff et al., 2004, *Clin Cancer Res.* 10:3528-3534), y pueden ser adaptados en consecuencia para estudiar los efectos de anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria.

Sarcoma

Se establecen modelos de xenotrasplante usando líneas celulares derivadas de la familia de tumores de Ewing, tales como RD-ES, SK-ES-1 o SK-N-MC, o rabdomiosarcomas, tales como A-673. Las líneas celulares están disponibles en la Colección Estadounidense de Cultivos Tipo (ATCC; Manassas, Virginia). Generalmente, se utilizan métodos similares a los descritos anteriormente. Por ejemplo, $2,5-5 \times 10^6$ células son suspendidas con tripsina/EDTA o resuspendidas en 100-200 μ L de caldo de cultivo e implantadas subcutáneamente en el costado de ratones inmunodeficientes (NuNu, SCID) de 6-8 semanas de edad (Charles River Laboratories, Wilmington, Massachusetts). Se usan de cinco a diez ratones por grupo tanto en los grupos de vehículo como en los de anticuerpos anti KIT. Una vez que los tumores son palpables o han alcanzado 100-200 mm³, se pone a los ratones en una terapia con inyecciones (por ejemplo, inyecciones intraperitoneales diarias, semanales o bisemanales) de suero fisiológico normal (vehículo) o anticuerpos anti KIT (por ejemplo, anticuerpos Hum1-Hum20 o conjugados anticuerpo-fármaco de los mismos). El tratamiento continúa un periodo de tiempo —por ejemplo, aproximadamente 6 semanas o más—, y el tamaño del tumor es evaluado (por ejemplo, dos veces por semana mediante mediciones bidimensionales). Se pueden usar métodos de formación de imágenes para detectar el tamaño del tumor; por ejemplo, IRM. Los ratones son sacrificados cuando el tamaño del tumor se aproxima a cierto tamaño (por ejemplo, aproximadamente 1,5 cm) en el grupo de control. Los tumores son recogidos, fijados en formol y analizados por tinción con H&E. Se toman imágenes representativas de cada tumor usando un microscopio óptico con, por ejemplo, $\times 40$ y $\times 100$ aumentos.

Se genera un gráfico del tamaño o el volumen del tumor de cada ratón trazado en función del tiempo (por ejemplo, días o semanas) después de la inyección del tumor para comprobar el efecto de los anticuerpos anti KIT en el desarrollo del tumor en los ratones con respecto al control negativo del vehículo.

Se han descrito modelos murinos para el sarcoma (por ejemplo, sarcoma de Ewing); véase, por ejemplo, la siguiente lista de publicaciones, y pueden ser adaptados en consecuencia para evaluar los efectos de anticuerpos anti KIT (por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos Hum1-Hum20):

- González et al., 2004, *Clin Cancer Res.* 10(2):751-61;
- Landuzzi et al., 2000, *Am J Pathol.* 157(6):2123-31 (células 6647);
- Merchant et al., 2002, *JNCI* 94(22):1673-1679 (células TC71);
- Sturla et al., 2000, *Cancer Res.* 60(21):6160-70 (células TC32 y RD-ES);
- Powis et al., 2006, *Mol Cancer Ther.* 5(3):630-636 (células A-673);
- Watanabe et al., 2008, *Hum Gene Ther.* 19(3):300-10 (células A-673);
- Rouleau et al., 2008, *Clin Cancer Res.* 14(22):7223-7236 (células A-673);
- Karmakar et al., 2011, *World J Oncol.* 2(2):53-63 (células RD-ES y SK-N-MC);
- Wang et al., 2009, *In vivo* 23(6):903-9 (células TC71); y
- Ikeda et al., 2010, *Mol Cancer Ther.* (3):653-60 (células TC71 y células A4573).

Modelo murino humanizado

Se realizan estudios con anticuerpos anti KIT, incluyendo conjugados de fármacos y anticuerpos anti KIT, por ejemplo, anticuerpos Hum1-Hum20, incluyendo conjugados anticuerpo-fármaco de los mismos, con modelos murinos generados por trasplante a ratones inmunodeficientes de componentes del sistema inmunitario humano; por ejemplo a ratones NSG humanizados (The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine). Los ratones NSG humanizados son ratones NOD *scid* con bloqueo de la cadena gamma del receptor IL-2 (NSG) trasplantados con células madre hematopoyéticas humanas (células hCD34⁺) para reconstituir un sistema inmunitario humano.

Estos ratones pueden servir de plataforma para el estudio de la toxicidad de anticuerpos anti KIT. Por ejemplo, grupos de ratones (por ejemplo, 1-5 ratones) son inyectados con diversas concentraciones de anticuerpos anti KIT durante un periodo de tiempo (por ejemplo, 4-16 semanas). Los ratones son evaluados en busca de indicadores de toxicidad; por ejemplo, peso corporal, duración de la supervivencia.

6.9 Ejemplo 9: Inhibición de la formación de colonias por células CHO que expresan KIT en ensayos en agar blando

Los anticuerpos anti KIT descritos en la presente memoria —por ejemplo Hum1-Hum20— son sometidos a ensayo en busca de su capacidad de inhibir el desarrollo celular independiente del anclaje en ensayos en agar blando de células CHO/KIT-WT. El ensayo en agar blando para la formación de colonias es un ensayo de desarrollo independiente del anclaje, el cual es un ensayo útil para detectar una transformación maligna de las células. La transformación *in vitro* está asociada con ciertos cambios fenotípicos, tales como pérdida de la inhibición del contacto (las células pueden crecer una sobre otra) e independencia de anclaje (las células forman colonias en agar blando). En general, las células no transformadas lo logran desarrollarse cuando son suspendidas en un fluido viscoso o gel (por ejemplo, agar o agarosa); sin embargo, cuando estas células están transformadas, son capaces de crecer en un fluido viscoso o gel y se vuelven independientes del anclaje. Se supone que el proceso por el cual se producen estos cambios está estrechamente relacionado con los procesos carcinogénicos *in vivo*.

Los ensayos en agar blando se llevan a cabo como sigue. Se añade una capa base de agar (que contiene agar y caldo de cultivo celular) a cada pocillo de una placa de 96 pocillos. Sobre la capa base de agar se añade la capa de agar celular (que contiene agar, caldo de cultivo celular y una suspensión de células). Se diluyen anticuerpos anti KIT en el caldo de cultivo celular y se echan con pipeta encima de las capas. Las muestras de control no contienen ningún anticuerpo. Las placas son incubadas a 37°C y con un 5% de CO₂ durante 5-8 días en presencia o ausencia de 30 ng/mL de SCF. El ligando SCF y los anticuerpos anti KIT (100 nM) son añadidos concurrentemente al agar.

Cuando se completa el tratamiento, el agar es solubilizado y las células son lisadas. Se mezcla la tinción fluorescente verde Cyquant® GR con los lisados. Esta tinción presenta fluorescencia cuando está unida a ácidos nucleicos celulares. La fluorescencia se mide con una excitación de 480 nm y una emisión de 520 nm.

Según se usan en esta memoria y en las reivindicaciones, las formas singulares “un”, “una”, “el” y “la” incluyen las formas plurales, a no ser que el contenido dicte claramente algo distinto. Así, por ejemplo, una referencia a “un anticuerpo” incluye una mezcla de dos o más anticuerpos de ese tipo y similares.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> KOLLTAN PHARMACEUTICALS, INC

5 <120> ANTICUERPOS ANTI KIT Y USOS DE LOS MISMOS

<130> 12638-059-228

<140> se asignará

10 <141> en la misma fecha

<150> 61/675,751

<151> 25-07-2012

15 <150> 61/675,762

<151> 25-07-2012

<160> 333

20 <170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 972

<212> PRT

25 <213> Homo sapiens

<220>

<223> KIT humano de longitud máxima

30 <400> 1

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

					245					250					255	
Glu	Lys	Tyr	Asn	Ser	Trp	His	His	Gly	Asp	Phe	Asn	Tyr	Glu	Arg	Gln	
			260					265					270			
Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Ala	Arg	Val	Asn	Asp	Ser	Gly	Val	Phe	
			275					280					285			
Met	Cys	Tyr	Ala	Asn	Asn	Thr	Phe	Gly	Ser	Ala	Asn	Val	Thr	Thr	Thr	
			290					295					300			
Leu	Glu	Val	Val	Asp	Lys	Gly	Phe	Ile	Asn	Ile	Phe	Pro	Met	Ile	Asn	
305					310						315				320	
Thr	Thr	Val	Phe	Val	Asn	Asp	Gly	Glu	Asn	Val	Asp	Leu	Ile	Val	Glu	
				325						330					335	
Tyr	Glu	Ala	Phe	Pro	Lys	Pro	Glu	His	Gln	Gln	Trp	Ile	Tyr	Met	Asn	
			340					345					350			
Arg	Thr	Phe	Thr	Asp	Lys	Trp	Glu	Asp	Tyr	Pro	Lys	Ser	Glu	Asn	Glu	
			355					360					365			
Ser	Asn	Ile	Arg	Tyr	Val	Ser	Glu	Leu	His	Leu	Thr	Arg	Leu	Lys	Gly	
							375					380				
Thr	Glu	Gly	Gly	Thr	Tyr	Thr	Phe	Leu	Val	Ser	Asn	Ser	Asp	Val	Asn	
385					390						395				400	
Ala	Ala	Ile	Ala	Phe	Asn	Val	Tyr	Val	Asn	Thr	Lys	Pro	Glu	Ile	Leu	
				405						410					415	
Thr	Tyr	Asp	Arg	Leu	Val	Asn	Gly	Met	Leu	Gln	Cys	Val	Ala	Ala	Gly	
			420					425					430			
Phe	Pro	Glu	Pro	Thr	Ile	Asp	Trp	Tyr	Phe	Cys	Pro	Gly	Thr	Glu	Gln	
			435					440					445			
Arg	Cys	Ser	Ala	Ser	Val	Leu	Pro	Val	Asp	Val	Gln	Thr	Leu	Asn	Ser	
						455						460				
Ser	Gly	Pro	Pro	Phe	Gly	Lys	Leu	Val	Val	Gln	Ser	Ser	Ile	Asp	Ser	
465					470					475					480	
Ser	Ala	Phe	Lys	His	Asn	Gly	Thr	Val	Glu	Cys	Lys	Ala	Tyr	Asn	Asp	
				485						490					495	
Val	Gly	Lys	Thr	Ser	Ala	Tyr	Phe	Asn	Phe	Ala	Phe	Lys	Glu	Gln	Ile	
			500					505					510			
His	Pro	His	Thr	Leu	Phe	Thr	Pro	Leu	Leu	Ile	Gly	Phe	Val	Ile	Val	
			515					520					525			
Ala	Gly	Met	Met	Cys	Ile	Ile	Val	Met	Ile	Leu	Thr	Tyr	Lys	Tyr	Leu	
							535					540				
Gln	Lys	Pro	Met	Tyr	Glu	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Val	Glu	Glu	Ile	Asn	
545					550						555				560	
Gly	Asn	Asn	Tyr	Val	Tyr	Ile	Asp	Pro	Thr	Gln	Leu	Pro	Tyr	Asp	His	
				565					570					575		
Lys	Trp	Glu	Phe	Pro	Arg	Asn	Arg	Leu	Ser	Phe	Gly	Lys	Thr	Leu	Gly	
			580					585								

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

<210> 2
<211> 116
5 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
10 <223> Dominio H1 VH

<400> 2
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Glu Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 3
15 <211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
20 <223> dominio H2 VH

<400> 3

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

<210> 4

<211> 116

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> dominio H3 VH

10

<400> 4

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

<210> 5

15 <211> 116

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> dominio H4 VH

20

<400> 5

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

25

<210> 6
 <211> 116
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> dominio H5 VH

 10 <400> 6
 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 Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn 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 Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

 <210> 7
 <211> 107
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> dominio L1 VL

 20 <400> 7
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Asn
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

 <210> 8
 25 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 30 <223> dominio L2 VL

 <400> 8

```

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

```

<210> 9
 <211> 107
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> L3 VL domain

```

<400> 9
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Asn
          20           25           30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile
          35           40           45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
          50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg
          85           90           95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
          100           105

```

<210> 10
 15 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 20 <223> dominio L4 VL

```

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

```

<210> 11
 <211> 116
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> secuencia de consenso de un dominio VH

<220>

5 <221> VARIANTE

<222> 11, 20, 38, 68, 70, 73, 82, 91

<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 11

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

10

<210> 12

<211> 107

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> secuencia de consenso de un dominio VL

20 <220>

<221> VARIANTE

<222> 10, 46, 63, 80, 85, 87

<223> Xaa = Cualquier aminoácido

25 <400> 12

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

30 <210> 13

<400> 13

000

35 <210> 14

<211> 246

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

40 <220>

<223> polipéptido recombinante del KIT D4/D5

<400> 14

```

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

```

5 <210> 15
 <211> 101
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <220>
 <223> K310 a N410 (dominio D4) de KIT humano

<400> 15

```

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

```

15 <210> 16
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> VH CDR1

<400> 16

Asp Tyr Tyr Ile Asn
 1 5
 <210> 17
 <211> 17
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VH CDR2
 10 <400> 17
 Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 18
 15 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 20 <223> VH CDR3
 <400> 18
 Gly Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 1 5
 25 <210> 19
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> VL CDR1
 <400> 19
 Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Asn Val Ala
 1 5 10
 35 <210> 20
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40 <220>
 <223> VL CDR2
 <400> 20
 Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
 45 1 5
 <210> 21
 <211> 9
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VL CDR3
 55 <400> 21
 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg Thr
 1 5
 <210> 22
 <211> 348

<212> DNA
<213> Secuencia Artificial

<220>

5 <223> Dominio H1 VH

<400> 22

```
cagggtccagc tgggtgcagtc tgggggctgag ctgaagaagc ctgggggcctc agtgaagctg 60
tcctgcaagg cttctggcta cactttcact gactactata taaactgggt gaagcaggcc 120
cctggaaagg gacttgagt gattgcaagg atttaccctg gaagtggtaa tacttactac 180
aatgagaagt tcaagggcag ggccacactg actgcagaaa aatccaccag cactgcctac 240
atgcagctca gcagcctgag atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aaggggggtg 300
tactactttg actactgggg ccaaggcacc actgtcacag tctcctca 348
```

10 <210> 23

<211> 348

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

15 <220>

<223>dominio H2 VH

<400> 23

```
cagggtccagc tgggtgcagtc tgggggctgag gtgaagaagc ctgggggcctc agtgaagctg 60
tcctgcaagg cttctggcta cactttcact gactactata taaactgggt gaagcaggcc 120
cctggaaagg gacttgagt gattgcaagg atttaccctg gaagtggtaa tacttactac 180
aatgagaagt tcaagggcag ggccacactg actgcagaaa aatccaccag cactgcctac 240
atgcagctca gcagcctgag atctgaggac actgctgtct atttctgtgc aaggggggtg 300
tactactttg actactgggg ccaaggcacc actgtcacag tctcctca 348
```

20

<210> 24

<211> 348

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

25

<220>

<223> dominio H3 VH

<400> 24

```
cagggtccagc tgggtgcagtc tgggggctgag gtgaagaagc ctgggggcctc agtgaagctg 60
tcctgcaagg cttctggcta cactttcact gactactata taaactgggt gaggcaggcc 120
cctggaaagg gacttgagt gattgcaagg atttaccctg gaagtggtaa tacttactac 180
aatgagaagt tcaagggcag ggccacactg actgcagaca aatccaccag cactgcctac 240
atgcagctca gcagcctgag atctgaggac actgctgtct atttctgtgc aaggggggtg 300
tactactttg actactgggg ccaaggcacc actgtcacag tctcctca 348
```

30

<210> 25

<211> 348

<212> DNA

35 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> dominio H4 VH

40 <400> 25

```
cagggtccagc tgggtgcagtc tgggggctgag gtgaagaagc ctgggggcctc agtgaaggtg 60
tcctgcaagg cttctggcta cactttcact gactactata taaactgggt gaggcaggcc 120
cctggaaagg gacttgagt gattgcaagg atttaccctg gaagtggtaa tacttactac 180
aatgagaagt tcaagggcag ggccacaatc actgcagaca aatccaccag cactgcctac 240
atggagctca gcagcctgag atctgaggac actgctgtct atttctgtgc aaggggggtg 300
tactactttg actactgggg ccaaggcacc actgtcacag tctcctca 348
```

<210> 26

<211> 348

45 <212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223>dominio H5 VH

<400> 26

```
cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtg 60
tcctgcaagg cttctggcta cactttcact gactactata taaactgggt gaggcaggcc 120
cctggaaagg gacttgagtg gattgcaagg atttaccctg gaagtggtaa tacttactac 180
aatgagaagt tcaagggcag ggtcacaatc actgcagaca aatccaccag cactgcctac 240
atggagctca gcagcctgag atctgaggac actgctgtct atttctgtgc aaggggggtg 300
5 tactactttg actactgggg ccaaggcacc actgtcacag tctcctca 348
```

<210> 27

<211> 321

<212> DNA

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223>dominio L1 VL

15 <400> 27

```
gacattgtga tgaccagtc tccatccttc ctgtccgcat cagtaggaga cagggtcacc 60
atcacctgca aggccagtc gaatgtgctg actaatgtag cctgggtatca acagaaacca 120
gggaaagctc ctaaagcact gatttactcg gcacccctacc ggtacagtgg agtccctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagctc tctgcagtct 240
gaagacttcg cagactatct ctgtcagcaa tataacagct atcctcggac gttcgggtgga 300
ggcaccaagg tggaaatcaa a 321
```

<210> 28

<211> 321

20 <212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> dominio L2 VL

25

<400> 28

```
gacattgtga tgaccagtc tccatccttc ctgtccgcat cagtaggaga cagggtcacc 60
atcacctgca aggccagtc gaatgtgctg actaatgtag cctgggtatca acagaaacca 120
gggaaagctc ctaaagcact gatttactcg gcacccctacc ggtacagtgg agtccctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagctc tctgcagcct 240
gaagacttcg cagactatct ctgtcagcaa tataacagct atcctcggac gttcgggtgga 300
ggcaccaagg tggaaatcaa a 321
```

<210> 29

30 <211> 321

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

35 <223> dominio L3 VL

<400> 29

```
gacattgtga tgaccagtc tccatccttc ctgtccgcat cagtaggaga cagggtcacc 60
atcacctgca aggccagtc gaatgtgctg actaatgtag cctgggtatca acagaaacca 120
gggaaagctc ctaaagcact gatttactcg gcacccctacc ggtacagtgg agtccctgat 180
cgcttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagctc tctgcagcct 240
gaagacttcg cagactatct ctgtcagcaa tataacagct atcctcggac gttcgggtgga 300
ggcaccaagg tggaaatcaa a 321
```

40 <210> 30

<211> 321

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

45 <220>

<223> dominio L4 VL

<400> 30
gacattgtga tgaccagtc tccatcctcc ctgtccgcat cagtaggaga cagggtcacc 60
atcacctgca aggccagtca gaatgtgctg actaatgtag cctgggtatca acagaaacca 120
gggaaagctc ctaaattccct gatttactcg gcatacctacc ggtacagtgg agtccctgat 180
cgcttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagctc tctgcagcct 240
gaagacttcg caacctatta ctgtcagcaa tataacagct atcctcggac gttcgggtgga 300
ggcaccaagg ttgaaatcaa a 321

5 <210> 31
<211> 116
<212> PRT
<213> ratón

10 <220>
<223> variable heavy chain region of anti-KIT antibody 37M

<400> 31
Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Glu Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

15 <210> 32
<211> 108
<212> PRT
<213> ratón

20 <220>
<223> region de cadena VL de anticuerpos anti-KIT 37M y 37C

<400> 32
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Asn
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

25 <210> 33
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> dominio FR1 de VH

<400> 33

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

<210> 34
 <211> 14
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> dominio FR2 de VH

10 <400> 34
 Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala
 1 5 10

<210> 35
 15 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 20 <223> dominio FR3 de VH

<400> 35
 Arg Ala Thr Leu Thr Ala Glu Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Gln
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

25 <210> 36
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> dominio FR4 de VH

<400> 36
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

35 <210> 37
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> dominio FR1 de VH

<400> 37
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

45 <210> 38
 <211> 32
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> dominio FR3 de VH

55 <400> 38
 Arg Ala Thr Leu Thr Ala Glu Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Gln

1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

5 <210> 39
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> dominio FR2 de VH

<400> 39
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala
 1 5 10

15 <210> 40
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> domino FR3 de VH

<400> 40
 Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Gln
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

25 <210> 41
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> domino FR1 de VH

<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
 20 25 30

35 <210> 42
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> domino FR3 de VH

45 <400> 42
 Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

50 <210> 43
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> domino FR3 de VH

<400> 43
 Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

5 <210> 44
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> domino FR1 de VL

<400> 44
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

15 <210> 45
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> domino FR2 de VL

<400> 45
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

25 <210> 46
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> domino FR3 de VL

<400> 46
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys
 20 25 30

35 <210> 47
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> dominio FR4 de VL

45 <400> 47
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

50 <210> 48
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> dominio FR1 de VL

<400> 48

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20
 <210> 49
 <211> 32
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> dominio FR3 de VL
 10 <400> 49
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys
 20 25 30
 <210> 50
 15 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 20 <223> domino FR3 de VL
 <400> 50
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys
 20 25 30
 25 <210> 51
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> domino FR2 de VL
 <400> 51
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr
 35 1 5 10 15
 <210> 52
 <211> 32
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> dominio FR3 de VL
 45 <400> 52
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
 20 25 30
 <210> 53
 50 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 55 <223> región de cadena VL de Ab1

```

<400> 53
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Thr Ser Leu Ser Ala Phe Val Gly
1      5      10      15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Tyr
20     25     30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Glu Pro Pro Lys Leu Leu Val
35     40     45
Tyr Asp Ala Ser Phe Leu Lys Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50     55     60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Phe Leu Thr Ile Tyr Ser Leu Gln Pro
65     70     75     80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln His Ser Asp Asn Leu Ser Val
85     90     95
Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Val Lys
100    105

```

5 <210> 54
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> región de cadena VL de Ab21

```

<400> 54
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Thr Ser Leu Ser Ala Phe Val Gly
1      5      10      15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Tyr
20     25     30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Glu Pro Pro Lys Leu Leu Val
35     40     45
Tyr Asp Ala Ser Phe Leu Lys Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50     55     60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Phe Leu Thr Ile Tyr Ser Leu Gln Pro
65     70     75     80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln His Ser Asp Ser Leu Ser Val
85     90     95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Val Lys
100    105

```

15 <210> 55
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> región de cadena VH de Ab1 o Ab21

```

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

```

<210> 56

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> VH CDR1 (Tabla 2)

<400> 56
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 1 5

10 <210> 57
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> VH CDR2 (Tabla 2)

<400> 57
Tyr Pro Gly Ser Gly Asn
 1 5

20 <210> 58
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VH CDR3 (Tabla 2)

30 <400> 58
Gly Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp
 1 5

<210> 59
 <211> 7
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL CDR1 (Tabla 2)

40 <400> 59
Ser Gln Asn Val Arg Thr Asn
 1 5

45 <210> 60
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 50 <223> VL CDR2 (Tabla 2)

<400> 60
Ser Ala Ser
 1

55 <210> 61
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> VL CDR3 (Tabla 2)

<400> 61
 Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg
 1 5

5 <210> 62
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> VH CDR2 (Tabla 2)

<400> 62
 Pro Gly Ser Gly
 1

15 <210> 63
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> VH CDR3 (Tabla 2)

<400> 63
 Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 25 1 5

<210> 64
 <211> 10
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH CDR1 (Tabla 3)

35 <400> 64
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Ile Asn
 1 5 10

<210> 65
 <211> 10
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH CDR2 (Tabla 3)

45 <400> 65
 Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr
 1 5 10

<210> 66
 <211> 7
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial

<220>
 55 <223> VL CDR1 (Tabla 3)

<400> 66
 Arg Thr Asn Val Ala Trp Tyr
 1 5

60 <210> 67

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <223> VL CDR2 (Tabla 3)
 <400> 67
 Ala Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr
 1 5 10
 10 <210> 68
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> VL CDR3 (Tabla 3)
 <400> 68
 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg
 20 1 5
 <210> 69
 <211> 116
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> región de cadena pesada variable de anticuerpo anti-KIT 37C
 30 <400> 69
 Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Glu Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
 100 105 110
 Thr Val Ser Ala
 115
 <210> 70
 <211> 6
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VH CDR1 (Tabla 3)
 40 <400> 70
 Thr Asp Tyr Tyr Ile Asn
 1 5
 <210> 71
 45 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>

<223> VH CDR2 (Tabla 3)

<400> 71

Trp Ile Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VH CDR3 (Tabla 3)

<400> 72

Ala Arg Gly Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 73

<211> 208

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> aminoácidos de KIT humano V308 a H515

<400> 73

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

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VL CDR1

<220>

<221> VARIANTE

<222> 1

<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 74

Xaa Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Asn Val Ala
 1 5 10
 <210> 75
 <211> 11
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VL CDR1
 10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 15 <400> 75
 Lys Xaa Ser Gln Asn Val Arg Thr Asn Val Ala
 1 5 10
 <210> 76
 20 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 25 <223> VL CDR1
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 30 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 76
 Lys Ala Xaa Gln Asn Val Arg Thr Asn Val Ala
 1 5 10
 35 <210> 77
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40 <220>
 <223> VL CDR1
 <220>
 <221> VARIANTE
 45 <222> 4
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 77
 Lys Ala Ser Xaa Asn Val Arg Thr Asn Val Ala
 1 5 10
 50 <210> 78
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> VL CDR1
 <220>
 60 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 78
Lys Ala Ser Gln Xaa Val Arg Thr Asn Val Ala
1 5 10

5 <210> 79
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> VL CDR1

<220>
<221> VARIANTE

15 <222> 5
<223> Xaa = Ala o Gly o Thr o Tyr o Cys o Ser

<400> 79
Lys Ala Ser Gln Xaa Val Arg Thr Asn Val Ala
1 5 10

20 <210> 80
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> VL CDR1

<220>
<221> VARIANTE

30 <222> 6
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 80
Lys Ala Ser Gln Asn Xaa Arg Thr Asn Val Ala
35 1 5 10

<210> 81
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> VL CDR1

45 <220>
<221> VARIANTE
<222> 7
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

50 <400> 81
Lys Ala Ser Gln Asn Val Xaa Thr Asn Val Ala
1 5 10

<210> 82
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55 <220>
<223> VL CDR1

60 <220>
<221> VARIANTE

<222> 8
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 82
 Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Xaa Asn Val Ala
 5 1 5 10

<210> 83
 <211> 11
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL CDR1

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 9
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

20 <400> 83
 Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Xaa Val Ala
 1 5 10

<210> 84
 <211> 11
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL CDR1

30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 9
 <223> Xaa = Ala o Gly o Thr o Tyr o Cys o Ser

35 <400> 84
 Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Xaa Val Ala
 1 5 10

<210> 85
 40 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 45 <223> VL CDR1

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 50 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 85
 Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Asn Xaa Ala
 1 5 10

55 <210> 86
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> VL CDR1

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

5

<400> 86
 Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Asn Val Xaa
 1 5 10

10

<210> 87
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>
 <223> VL CDR1

<400> 87
 Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Asn Val
 1 5 10

20

<210> 88
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>
 <223> VL CDR1

<400> 88
 Ile Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Asn
 1 5 10

30

<210> 89
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL CDR1

35

<400> 89
 Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Asn Val Ala Trp 1 5 10
 <210> 90
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL CDR1

<400> 90
 Ser Gln Asn Val Arg Thr Asn Val Ala Trp Tyr 1 5 10
 <210> 91
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL CDR1

<400> 91
 Gln Asn Val Arg Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln 1 5 10

<210> 92
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VL CDR2

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 1
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 92
 Xaa Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser 1 5
 <210> 93
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VL CDR2

 <220>
 <221> VARIANTE
 5 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 93
 Ser Xaa Ser Tyr Arg Tyr Ser
 1 5
 10
 <210> 94
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> VL CDR2

 <220>
 20 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 94
 Ser Ala Xaa Tyr Arg Tyr Ser
 25 1 5
 <210> 95
 <211> 7
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VL CDR2

 35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 40 <400> 95
 Ser Ala Ser Xaa Arg Tyr Ser
 1 5
 <210> 96
 <211> 7

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 5 <223> VL CDR2

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 10 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 96
 Ser Ala Ser Tyr Xaa Tyr Ser
 1 5

 15 <210> 97
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 20 <220>
 <223> VL CDR2

 <220>
 <221> VARIANTE
 25 <222> 6
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 97
 Ser Ala Ser Tyr Arg Xaa Ser
 1 5
 30
 <210> 98
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35
 <220>
 <223> VL CDR2

 <220>
 <221> VARIANTE
 40 <222> 7
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 98
 Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Xaa
 1 5
 45
 <210> 99
 <211> 7
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VL CDR2

 55 <400> 99
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr
 1 5

 <210> 100
 <211> 7
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL CDR2

 <400> 100
 Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg
 5 1 5

 <210> 101
 <211> 7
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VL CDR2

 15 <400> 101
 Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr
 1 5

 <210> 102
 <211> 7
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VL CDR2
 25
 <400> 102
 Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly
 1 5

 <210> 103
 <211> 7
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 35 <223> VL CDR2

 <400> 103
 Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val
 1 5

 40 <210> 104
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 45 <220>
 <223> VL CDR2

 <400> 104
 Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro
 1 5
 50
 <210> 105
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55
 <220>
 <223> VL CDR3

 <220>
 60 <221> VARIANTE
 <222> 2

<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 105
Gln Xaa Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg Thr
1 5

5 <210> 106
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> VL CDR3

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 106
Gln Gln Xaa Asn Ser Tyr Pro Arg Thr
1 5

20 <210> 107
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VL CDR3

30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

35 <400> 107
Gln Gln Tyr Xaa Ser Tyr Pro Arg Thr
1 5

40 <210> 108
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> VL CDR3

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 108
Gln Gln Tyr Asn Xaa Tyr Pro Arg Thr
1 5

55 <210> 109
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> VL CDR3

<220>

<221> VARIANTE
 <222> 6
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

5 <400> 109
 Gln Gln Tyr Asn Ser Xaa Pro Arg Thr
 1 5

<210> 110
 <211> 9
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL CDR3

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

20 <400> 110
 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Xaa Arg Thr
 1 5

<210> 111
 <211> 9
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 30 <223> VL CDR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 8
 35 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 111
 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Xaa Thr
 1 5

40 <210> 112
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> VL CDR3

<220>
 <221> VARIANTE
 50 <222> 9
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 112
 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg Xaa
 1 5

55 <210> 113
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> VL CDR3

<400> 113
 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg
 1 5

5 <210> 114
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> VL CDR3

<400> 114
 Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro
 1 5

15 <210> 115
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> VL CDR3

<400> 115
 Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr
 25 1 5

<210> 116
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL CDR3

35 <400> 116
 Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser
 1 5

<210> 117
 <211> 8
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL CDR3

45 <400> 117
 Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg Phe
 1 5

<210> 118
 50 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 55 <223> VL CDR3

<400> 118
 Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg Phe Gly
 1 5

60 <210> 119

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 5 <220>
 <223> VL CDR3

 <400> 119
Ser Tyr Pro Arg Phe Gly Gly
 1 5
 10 <210> 120
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> VH CDR1

 <220>
 20 <221> VARIANTE
 <222> 1
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 120
Xaa Tyr Tyr Ile Asn
 25 1 5

 <210> 121
 <211> 5
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VH CDR1

 35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 40 <400> 121
Asp Xaa Tyr Ile Asn
 1 5

 <210> 122
 <211> 5
 45 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VH CDR1
 50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 55 <400> 122
Asp Tyr Xaa Ile Asn
 1 5

 <210> 123
 60 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH CDR1

5 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

10 <400> 123
Asp Tyr Tyr Xaa Asn
 1 5

<210> 124
 <211> 5
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH CDR1

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

25 <400> 124
Asp Tyr Tyr Ile Xaa
 1 5

<210> 125
 30 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 35 <223> VH CDR1

<400> 125
Thr Asp Tyr Tyr Ile
 1 5

40 <210> 126
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> VH CDR1

<400> 126
Phe Thr Asp Tyr Tyr
 1 5

50 <210> 127
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> VH CDR1

<400> 127
Thr Phe Thr Asp Tyr
 60 1 5

<210> 128
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> VH CDR1
 <400> 128
 Tyr Tyr Ile Asn Trp
 10 1 5
 <210> 129
 <211> 6
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VH CDR1
 20 <400> 129
 Tyr Tyr Ile Asn Trp Val
 1 5
 <210> 130
 <211> 5
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VH CDR1
 30 <400> 130
 Ile Asn Trp Val Arg
 1 5
 <210> 131
 <211> 17
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> VH CDR2
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 1
 45 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 131
 Xaa Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly
 50 <210> 132
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> VH CDR2
 <220>
 <221> VARIANTE
 60 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 132
 Arg Xaa Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

5 <210> 133
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> VH CDR2

<220>
 <221> VARIANTE

15 <222> 3
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 133
 Arg Ile Xaa Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

20 <210> 134
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VH CDR2

<220>
 <221> VARIANTE

30 <222> 4
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 134
 Arg Ile Tyr Xaa Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

35 <210> 135
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH CDR2

45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

50 <400> 135
 Arg Ile Tyr Pro Xaa Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 136
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>

<223> VH CDR2

<220>
<221> VARIANTE

5 <222> 6
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 136
Arg Ile Tyr Pro Gly Xaa Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

10 <210> 137
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<223> VH CDR2

<220>
20 <221> VARIANTE
<222> 7
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 137
Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Xaa Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

25 <210> 138
<211> 17
<212> PRT
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> VH CDR2

35 <220>
<221> VARIANTE
<222> 8
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

40 <400> 138
Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Xaa Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 139
<211> 17
45 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> VH CDR2

50 <220>
<221> VARIANTE
<222> 9
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

55 <400> 139
Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Xaa Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

5 <210> 140
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 10 <220>
 <223> VH CDR2

 15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 140
 Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Xaa Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

 20 <210> 141
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 25 <220>
 <223> VH CDR2

 30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 141
 Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Xaa Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

 35 <210> 142
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 40 <220>
 <223> VH CDR2

 45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 12
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 142
 Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Xaa Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

 50 <210> 143
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 55 <220>
 <223> VH CDR2

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 13
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 5
 <400> 143
 Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Xaa Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 144
 10 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> VH CDR2
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 14
 20 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 144
 Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Xaa Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly
 25 <210> 145
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> VH CDR2
 <220>
 <221> VARIANTE
 35 <222> 15
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 145
 Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Xaa Lys
 1 5 10 15
 Gly
 40 <210> 146
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> VH CDR2
 <220>
 50 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 146
 Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Xaa
 1 5 10 15
 55 Gly
 <210> 147
 <211> 17

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 5 <223> VH CDR2

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 17
 10 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 147
 Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Xaa

 15 <210> 148
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 20 <220>
 <223> VH CDR2

 <400> 148
 Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
 1 5 10 15
 25 <210> 149
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 30 <220>
 <223> VH CDR2

 <400> 149
 35 Ile Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys 1 5 10 15

 <210> 150
 <211> 16
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VH CDR2

 45 <400> 150
 Trp Ile Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu
 1 5 10 15

 <210> 151
 <211> 17
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VH CDR2

 55 <400> 151
 Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly
 1 5 10 15
 Arg

 <210> 152
 60 <211> 17

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 5 <223> VH CDR2

 <400> 152
 Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Arg
 1 5 10 15
 Ala

 10 <210> 153
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> VH CDR2

 <400> 153
 Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Arg Ala
 1 5 10 15
 Thr

 20 <210> 154
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 25 <220>
 <223> VH CDR3

 <220>
 30 <221> VARIANTE
 <222> 1
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 154
 Xaa Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 35 1 5

 <210> 155
 <211> 7
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VH CDR3

 45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 50 <400> 155
 Gly Xaa Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 1 5

 <210> 156
 <211> 7
 55 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VH CDR3

 60

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 5
 <400> 156
 Gly Val Xaa Tyr Phe Asp Tyr
 1 5
 <210> 157
 10 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> VH CDR3
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 20 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 157
 Gly Val Tyr Xaa Phe Asp Tyr
 1 5
 25 <210> 158
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> VH CDR3
 <220>
 <221> VARIANTE
 35 <222> 5
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 158
 Gly Val Tyr Tyr Xaa Asp Tyr
 1 5
 40 <210> 159
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> VH CDR3
 <220>
 <221> VARIANTE
 50 <222> 6
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 159
 Gly Val Tyr Tyr Phe Xaa Tyr
 1 5
 55 <210> 160
 <211> 7
 <212> PRT
 60 <213> Secuencia Artificial
 <220>

<223> VH CDR3
 <220>
 <221> VARIANTE
 5 <222> 7
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 160
 Gly Val Tyr Tyr Phe Asp Xaa
 1 5
 10 <210> 161
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> VH CDR3
 <400> 161
 Arg Gly Val Tyr Tyr Phe Asp
 20 1 5
 <210> 162
 <211> 7
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VH CDR3
 30 <400> 162
 Ala Arg Gly Val Tyr Tyr Phe
 1 5
 <210> 163
 <211> 7
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VH CDR3
 40 <400> 163
 Cys Ala Arg Gly Val Tyr Tyr
 1 5
 <210> 164
 45 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 50 <223> VH CDR3
 <400> 164
 Gly Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp
 1 5
 55 <210> 165
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 60 <220>
 <223> VH CDR3

<400> 165
Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
1 5

5 <210> 166
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> VH CDR3

<400> 166
Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
1 5

15 <210> 167
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> VH FR1

25 <220>
<221> VARIANTE
<222> 1
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

30 <220>
<221> VARIANTE
<222> 11, 20
<223> Xaa = Leu o Val

<400> 167
Xaa Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
20 25 30

35 <210> 168
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> VH FR1

45 <220>
<221> VARIANTE
<222> 2
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

50 <220>
<221> VARIANTE
<222> 11, 20
<223> Xaa = Leu o Val

55 <400> 168
Gln Xaa Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
20 25 30

<210> 169

<211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE
 10 <222> 3
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 15 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

<400> 169
 Gln Val Xaa Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

20 <210> 170
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE
 30 <222> 4, 11, 24
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 35 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

<400> 170
 Gln Val Gln Xaa Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

40 <210> 171
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR1

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

60 <400> 171

	Gln	Val	Gln	Leu	Xaa	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Xaa	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1				5					10					15	
	Ser	Val	Lys	Xaa	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr		
				20					25					30		

5 <210> 172
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> VH FR1

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 6
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Xaa	Ser	Gly	Ala	Glu	Xaa	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1				5					10					15	
	Ser	Val	Lys	Xaa	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr		
				20					25					30		

25 <210> 173
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> VH FR1

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Xaa	Gly	Ala	Glu	Xaa	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1				5					10					15	
	Ser	Val	Lys	Xaa	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr		
				20					25					30		

45 <210> 174
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> VH FR1

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 8
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val
 5
 <400> 174
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Xaa Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30
 <210> 175
 10 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> VH FR1
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 9
 20 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 25 <223> Xaa = Leu o Val
 <400> 175
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Xaa Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30
 30 <210> 176
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> VH FR1
 <220>
 <221> VARIANTE
 40 <222> 10
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> VARIANTE
 45 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val
 <400> 176
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Xaa Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30
 50
 <210> 177
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11
 5 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 20
 10 <223> Xaa = Leu o Val

<400> 177
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

15 <210> 178
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE
 25 <222> 12
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 30 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

<400> 178
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Xaa Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

35 <210> 179
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE
 45 <222> 13
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 50 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

<400> 179
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Xaa Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

55 <210> 180

<211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE

10 <222> 14
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE

15 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

<400> 180
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Xaa Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

20 <210> 181
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE

30 <222> 15
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE

35 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

<400> 181
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Xaa Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

40 <210> 182
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR1

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

60 <400> 182

	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Xaa	Lys	Lys	Pro	Gly	Xaa
	1				5					10					15	
	Ser	Val	Lys	Xaa	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr		
				20					25					30		

5 <210> 183
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> VH FR1

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 17
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Xaa	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1				5					10					15	
	Xaa	Val	Lys	Xaa	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr		
				20					25					30		

25 <210> 184
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> VH FR1

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 18
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Xaa	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1				5					10					15	
	Ser	Xaa	Lys	Xaa	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr		
				20					25					30		

45 <210> 185
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> VH FR1

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 19
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val
 5
 <400> 185
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Xaa Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30
 <210> 186
 10 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> VH FR1
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11
 20 <223> Xaa = Leu o Val
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 20
 25 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 186
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30
 30 <210> 187
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> VH FR1
 <220>
 <221> VARIANTE
 40 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val
 <220>
 <221> VARIANTE
 45 <222> 21
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 187
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Xaa Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30
 50 <210> 188
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 5 <223> Xaa = Leu o Val

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 22
 10 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 188
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Xaa Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

15 <210> 189
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE
 25 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 30 <222> 23
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 189
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Xaa Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

35 <210> 190
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE
 45 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

<220>
 50 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 190
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Xaa Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

55 <210> 191

<211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE

10 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

<220>
 <221> VARIANTE

15 <222> 25
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 191
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Xaa Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

20 <210> 192
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE

30 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

<220>
 <221> VARIANTE

35 <222> 26
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 192
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Xaa Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

40 <210> 193
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR1

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

<220>
 <221> VARIANTE

55 <222> 27
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

60 <400> 193

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Xaa	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Xaa	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Xaa	Thr	Phe	Thr		
			20					25					30		

<210> 194
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 28
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Xaa	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Xaa	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Xaa	Phe	Thr		
			20					25					30		

<210> 195
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Xaa	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Xaa	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Xaa	Thr		
			20					25					30		

<210> 196
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR1

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11, 20
 <223> Xaa = Leu o Val

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 30
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 5
 <400> 196
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Xaa Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Xaa
 20 25 30
 <210> 197
 10 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> VH FR2
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 1
 20 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 25 <223> Xaa = Arg o Lys
 <400> 197
 Xaa Val Xaa Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala
 1 5 10
 30 <210> 198
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> VH FR2
 <220>
 <221> VARIANTE
 40 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> VARIANTE
 45 <222> 3
 <223> Xaa = Arg o Lys
 <400> 198
 Trp Xaa Xaa Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala
 1 5 10
 50 <210> 199
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> VH FR2
 <220>
 60 <221> VARIANTE
 <222> 3

<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 199
 Trp Val Xaa Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala
 1 5 10

5 <210> 200
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> VH FR2

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Arg o Lys

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 200
 Trp Val Xaa Xaa Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala
 25 1 5 10

<210> 201
 <211> 14
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR2

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Arg o Lys

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

45 <400> 201
 Trp Val Xaa Gln Xaa Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala
 1 5 10

<210> 202
 <211> 14
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR2

55 <220>

<220>
 <221> VARIANTE
 60 <222> 3
 <223> Xaa = Arg o Lys

<220>

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 6
 5 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 202
 Trp Val Xaa Gln Ala Xaa Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala
 1 5 10

 10 <210> 203
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> VH FR2

 <220>

 20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Arg o Lys

 25 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 30 <400> 203
 Trp Val Xaa Gln Ala Pro Xaa Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala
 1 5 10

 <210> 204
 <211> 14
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VH FR2
 40 <220>

 <220>
 <221> VARIANTE
 45 <222> 3
 <223> Xaa = Arg o Lys

 <220>
 <221> VARIANTE
 50 <222> 8
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 204
 Trp Val Xaa Gln Ala Pro Gly Xaa Gly Leu Glu Trp Ile Ala
 55 1 5 10

 <210> 205
 <211> 14
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>

<223> VH FR2
 <220>
 5 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Arg o Lys
 10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 9
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 15 <400> 205
 Trp Val Xaa Gln Ala Pro Gly Lys Xaa Leu Glu Trp Ile Ala
 1 5 10
 <210> 206
 <211> 14
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VH FR2
 25 <220>
 <220>
 <221> VARIANTE
 30 <222> 3
 <223> Xaa = Arg o Lys
 <220>
 <221> VARIANTE
 35 <222> 10
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 206
 Trp Val Xaa Gln Ala Pro Gly Lys Gly Xaa Glu Trp Ile Ala
 1 5 10
 40 <210> 207
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> VH FR2
 <220>
 50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Arg o Lys
 55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 60 <400> 207
 Trp Val Xaa Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Xaa Trp Ile Ala
 1 5 10

<210> 208
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> VH FR2
 <220>
 10
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Arg o Lys
 15
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 12
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 20
 <400> 208
 Trp Val Xaa Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Xaa Ile Ala
 1 5 10
 <210> 209
 25 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 30 <223> VH FR2
 <220>
 <220>
 35 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Arg o Lys
 <220>
 40 <221> VARIANTE
 <222> 13
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 209
 Trp Val Xaa Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Xaa Ala
 45 1 5 10
 <210> 210
 <211> 14
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VH FR2
 55 <220>
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 60 <223> Xaa = Arg o Lys
 <220>
 <221> VARIANTE

<222> 14
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 210
 Trp Val Xaa Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Xaa
 5 1 5 10

<210> 211
 <211> 32
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR3

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 1
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Ala o Val

25 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

40 <400> 211
 Xaa Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 212
 <211> 32
 45 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR3

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

60 <220>
 <221> VARIANTE

<222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

<220>
 5 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

<400> 212
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 10 20 25 30

<210> 213
 <211> 32
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR3

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Ala o Val

25 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

45 <400> 213
 Arg Xaa Xaa Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 214
 <211> 32
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR3

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Ala o Val

60

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

5

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

10

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

15

<400> 214
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

20

<210> 215
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>
 <223> VH FR3

30

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

35

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

40

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

45

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

50

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

55

<400> 215
 Arg Xaa Thr Xaa Xaa Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

60

<210> 216
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VH FR3
 <220>
 <221> VARIANTE
 5 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> VARIANTE
 10 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu
 <220>
 <221> VARIANTE
 15 <222> 6
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> VARIANTE
 20 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln
 <220>
 <221> VARIANTE
 25 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr
 <400> 216
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Xaa Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30
 30 <210> 217
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> VH FR3
 <220>
 40 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <220>
 45 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu
 <220>
 50 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <220>
 55 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln
 <220>
 60 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

<400> 217

Arg	Xaa	Thr	Xaa	Thr	Ala	Xaa	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Xaa
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Xaa	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg
			20					25					30		

<210> 218

5 <211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> VH FR3

<220>

<221> VARIANTE

<222> 2

15 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>

<221> VARIANTE

<222> 4

20 <223> Xaa = Ile o Leu

<220>

<221> VARIANTE

<222> 8

25 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>

<221> VARIANTE

<222> 16

30 <223> Xaa = Glu o Gln

<220>

<221> VARIANTE

<222> 25

35 <223> Xaa = Ser o Thr

<400> 218

Arg	Xaa	Thr	Xaa	Thr	Ala	Asp	Xaa	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Xaa
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Xaa	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg
			20					25					30		

40 <210> 219

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

45 <223> VH FR3

<220>

<221> VARIANTE

<222> 2

50 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>

<221> VARIANTE

<222> 4

55 <223> Xaa = Ile o Leu

<220>

<221> VARIANTE

<222> 9

60

<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
<221> VARIANTE
5 <222> 16
<223> Xaa = Glu o Gln

<220>
<221> VARIANTE
10 <222> 25
<223> Xaa = Ser o Thr

<400> 219
Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Xaa Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
1 5 10 15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
20 25 30

15 <210> 220
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> VH FR3

<220>
25 <221> VARIANTE
<222> 2
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
30 <221> VARIANTE
<222> 4
<223> Xaa = Ile o Leu

<220>
35 <221> VARIANTE
<222> 10
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
40 <221> VARIANTE
<222> 16
<223> Xaa = Glu o Gln

<220>
45 <221> VARIANTE
<222> 25
<223> Xaa = Ser o Thr

<400> 220
Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Xaa Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
1 5 10 15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
20 25 30

50 <210> 221
<211> 32
<212> PRT
55 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> VH FR3

60 <220>

<221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

5 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

25 <400> 221
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Xaa Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 222
 <211> 32
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR3

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 12
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

60 <400> 222

Arg	Xaa	Thr	Xaa	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Xaa	Ala	Tyr	Met	Xaa
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Xaa	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg
			20					25					30		

<210> 223
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 13
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

<400> 223

Arg	Xaa	Thr	Xaa	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Xaa	Tyr	Met	Xaa
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Xaa	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg
			20					25					30		

<210> 224
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 14
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 5 <223> Xaa = Glu o Gln

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 10 <223> Xaa = Ser o Thr

<400> 224
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Xaa Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 15 20 25 30

<210> 225
 <211> 32
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR3

25 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 15
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

50 <400> 225
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Xaa Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 226
 <211> 32
 55 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR3

60 <220>

<221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

5 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 17
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

20 <400> 226
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 227
 <211> 32
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR3

30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 17
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

55 <400> 227
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 228
 60 <211> 32

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> VH FR3

10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

25 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 18
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

<400> 228
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Xaa Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

35 <210> 229
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> VH FR3

45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

60 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 19
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>

<221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

5 <400> 229
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Xaa Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 230
 <211> 32
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR3

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

25 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 20
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

40 <400> 230
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Xaa Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 231
 45 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 50 <223> VH FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 55 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 60 <223> Xaa = Ile o Leu

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 5 <223> Xaa = Glu o Gln

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 21
 10 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 15 <223> Xaa = Ser o Thr

<400> 231
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Xaa Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

20 <210> 232
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VH FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 30 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 35 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

<220>
 <221> VARIANTE
 40 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

<220>
 <221> VARIANTE
 45 <222> 22
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 50 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

<400> 232
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 55 Leu Ser Ser Leu Arg Xaa Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 233
 <211> 32
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> VH FR3

5 <220>
<221> VARIANTE
<222> 2
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

10 <220>
<221> VARIANTE
<222> 4
<223> Xaa = Ile o Leu

15 <220>
<221> VARIANTE
<222> 16
<223> Xaa = Glu o Gln

20 <220>
<221> VARIANTE
<222> 23
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

25 <220>
<221> VARIANTE
<222> 25
<223> Xaa = Ser o Thr

30 <400> 233
Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
1 5 10 15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Xaa Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 234
<211> 32
35 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> VH FR3

40 <220>
<221> VARIANTE
<222> 2
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

45 <220>
<221> VARIANTE
<222> 4
<223> Xaa = Ile o Leu

50 <220>
<221> VARIANTE
<222> 16
<223> Xaa = Glu o Gln

55 <220>
<221> VARIANTE
<222> 24
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

60 <220>
<221> VARIANTE
<222> 25

<223> Xaa = Ser o Thr

<400> 234

Arg	Xaa	Thr	Xaa	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Xaa
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Xaa	Xaa	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg
			20					25					30		

5

<210> 235

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

10

<220>

<223> VH FR3

<220>

15 <221> VARIANTE

<222> 2

<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>

20 <221> VARIANTE

<222> 4

<223> Xaa = Ile o Leu

<220>

25 <221> VARIANTE

<222> 16

<223> Xaa = Glu o Gln

<220>

30 <221> VARIANTE

<222> 25

<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 235

Arg	Xaa	Thr	Xaa	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Xaa
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Xaa	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg
			20					25					30		

35

<210> 236

<211> 32

<212> PRT

40 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VH FR3

<220>

45 <221> VARIANTE

<222> 2

<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>

50 <221> VARIANTE

<222> 4

<223> Xaa = Ile o Leu

<220>

55 <221> VARIANTE

<222> 16

<223> Xaa = Glu o Gln

60

<220>

<221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

5 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 26
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

10 <400> 236
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Xaa Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 237
 <211> 32
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR3

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

25 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 27
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

45 <400> 237
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Xaa Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 238
 50 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 55 <223> VH FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 60 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 5 <223> Xaa = Ile o Leu

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 10 <223> Xaa = Glu o Gln

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 15 <223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 28
 20 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 238
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Xaa Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

25 <210> 239
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> VH FR3

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 239
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Xaa Cys Ala Arg
 20 25 30

60

<210> 240
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> VH FR3
 <220>
 10 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <220>
 15 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu
 <220>
 20 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln
 <220>
 25 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr
 <220>
 30 <221> VARIANTE
 <222> 30
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 240
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 35 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Xaa Ala Arg
 20 25 30
 <210> 241
 40 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> VH FR3
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 50 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 55 <223> Xaa = Ile o Leu
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 60 <223> Xaa = Glu o Gln
 <220>
 <221> VARIANTE

<222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 5 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 241
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Xaa Arg
 10 20 25 30

<210> 242
 <211> 32
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR3

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

25 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ile o Leu

30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu o Gln

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Ser o Thr

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 32
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

45 <400> 242
 Arg Xaa Thr Xaa Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Xaa Ala Val Tyr Phe Cys Ala Xaa
 20 25 30

<210> 243
 <211> 11
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VH FR4

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 1
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

60

<400> 243
 Xaa Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

5 <210> 244
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> VH FR4

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 244
 Trp Xaa Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

20 <210> 245
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VH FR4

30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 245
 Trp Gly Xaa Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

35 <210> 246
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> VH FR4

45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 246
 Trp Gly Gln Xaa Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

50 <210> 247
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> VH FR4

60 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 5

<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 247

Trp Gly Gln Gly Xaa Thr Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

5

<210> 248

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

10

<220>

<223> VH FR4

<220>

15 <221> VARIANTE

<222> 6

<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 248

20 Trp Gly Gln Gly Thr Xaa Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 249

25 <211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

30 <223> VH FR4

<220>

<221> VARIANTE

<222> 7

35 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 249

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Xaa Thr Val Ser Ser
1 5 10

40 <210> 250

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

45 <220>

<223> VH FR4

<220>

<221> VARIANTE

50 <222> 8

<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 250

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Xaa Val Ser Ser
1 5 10

55

<210> 251

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

60

<220>

<223> VH FR4

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 9
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 5
 <400> 251
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Xaa Ser Ser
 1 5 10
 <210> 252
 10 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> VH FR4
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 20 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 252
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Xaa Ser
 1 5 10
 25 <210> 253
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> VH FR4
 <220>
 <221> VARIANTE
 35 <222> 11
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 253
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Xaa
 1 5 10
 40 <210> 254
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> VL FR1
 <220>
 50 <221> VARIANTE
 <222> 1
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <220>
 55 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser
 <400> 254
 Xaa Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20
 60

<210> 255
 <211> 23
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VL FR1

 10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

 20 <400> 255
 Asp Xaa Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

 <210> 256
 <211> 23
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VL FR1
 30
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 35
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser
 40
 <400> 256
 Asp Ile Xaa Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

 <210> 257
 45 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 50 <223> VL FR1

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 55 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 60 <223> Xaa = Phe o Ser

<400> 257
 Asp Ile Val Xaa Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

5 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

<210> 258
 <211> 23
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR1

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

25 <400> 258
 Asp Ile Val Met Xaa Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

<210> 259
 <211> 23
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR1

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 6
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

45 <400> 259
 Asp Ile Val Met Thr Xaa Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

<210> 260
 <211> 23
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 55 <223> VL FR1

<220>
 <221> VARIANTE

<222> 7
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 5 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

<400> 260
 Asp Ile Val Met Thr Gln Xaa Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 10 20

<210> 261
 <211> 23
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR1

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 8
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

25 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

30 <400> 261
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Xaa Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

<210> 262
 <211> 23
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR1

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 9
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

50 <400> 262
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Xaa Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

55 <210> 263
 <211> 23

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 5 <223> VL FR1

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 10 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 263
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

 15 <210> 264
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 20 <220>
 <223> VL FR1

 <220>
 <221> VARIANTE
 25 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

 <220>
 <221> VARIANTE
 30 <222> 11
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 264
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Xaa Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

 35 <210> 265
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 40 <220>
 <223> VL FR1

 <220>
 <221> VARIANTE
 45 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

 <220>
 <221> VARIANTE
 50 <222> 12
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 265
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Xaa Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

 55 <210> 266

<211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> VL FR1

<220>
 <221> VARIANTE
 10 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 15 <222> 13
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 266
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Xaa Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

20 <210> 267
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VL FR1

<220>
 <221> VARIANTE
 30 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 35 <222> 14
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 267
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Xaa Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

40 <210> 268
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR1

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 15
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

60 <400> 268

	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Xaa	Leu	Ser	Ala	Ser	Xaa	Gly
	1				5					10					15	
	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys									
				20												

5 <210> 269
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> VL FR1

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Xaa	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Xaa
	1				5					10					15	
	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys									
				20												

25 <210> 270
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> VL FR1

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 17
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Xaa	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
	1				5					10					15	
	Xaa	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys									
				20												

45 <210> 271
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> VL FR1

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 18
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

5

<400> 271
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Xaa Val Thr Ile Thr Cys
 20

10

<210> 272
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>
 <223> VL FR1

20

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

25

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 19
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 272
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Xaa Thr Ile Thr Cys
 20

30

<210> 273
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35

<220>
 <223> VL FR1

40

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

45

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 20
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 273
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Xaa Ile Thr Cys
 20

50

<210> 274
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55

<220>
 <223> VL FR1

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 5 <223> Xaa = Phe o Ser

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 21
 10 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 274
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Xaa Thr Cys
 20
 15 <210> 275
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 20 <220>
 <223> VL FR1

 <220>
 <221> VARIANTE
 25 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

 <220>
 <221> VARIANTE
 30 <222> 22
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 275
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Xaa Cys
 20
 35 <210> 276
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 40 <220>
 <223> VL FR1

 <220>
 <221> VARIANTE
 45 <222> 10
 <223> Xaa = Phe o Ser

 <220>
 <221> VARIANTE
 50 <222> 23
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <400> 276
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Xaa
 20
 55 <210> 277

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> VL FR2

<220>
 <221> VARIANTE
 10 <222> 1
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 15 <222> 12
 <223> Xaa = Ser o Ala

<400> 277
 Xaa Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Xaa Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

20 <210> 278
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VL FR2

<220>
 30 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 35 <221> VARIANTE
 <222> 12
 <223> Xaa = Ser o Ala

<400> 278
 Trp Xaa Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Xaa Leu Ile Tyr
 40 1 5 10 15

<210> 279
 <211> 15
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR2

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 12
 <223> Xaa = Ser o Ala

60 <400> 279
 Trp Tyr Xaa Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Xaa Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 280

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> VL FR2

<220>
 <221> VARIANTE
 10 <222> 4
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 15 <222> 12
 <223> Xaa = Ser o Ala

<400> 280
 Trp Tyr Gln Xaa Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Xaa Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

20 <210> 281
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VL FR2

<220>
 30 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 35 <221> VARIANTE
 <222> 12
 <223> Xaa = Ser o Ala

<400> 281
 Trp Tyr Gln Gln Xaa Pro Gly Lys Ala Pro Lys Xaa Leu Ile Tyr
 40 1 5 10 15

<210> 282
 <211> 15
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR2

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 6
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 12
 <223> Xaa = Ser o Ala

60 <400> 282
 Trp Tyr Gln Gln Lys Xaa Gly Lys Ala Pro Lys Xaa Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 283

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> VL FR2

<220>
 <221> VARIANTE
 10 <222> 7
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 15 <222> 12
 <223> Xaa = Ser o Ala

<400> 283
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Xaa Lys Ala Pro Lys Xaa Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

20 <210> 284
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VL FR2

<220>
 30 <221> VARIANTE
 <222> 8
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 35 <221> VARIANTE
 <222> 12
 <223> Xaa = Ser o Ala

<400> 284
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Xaa Ala Pro Lys Xaa Leu Ile Tyr
 40 1 5 10 15

<210> 285
 <211> 15
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR2

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 9
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 12
 <223> Xaa = Ser o Ala

60 <400> 285
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Xaa Pro Lys Xaa Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 286

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> VL FR2

<220>
 <221> VARIANTE
 10 <222> 10
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 15 <222> 12
 <223> Xaa = Ser o Ala

<400> 286
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Xaa Lys Xaa Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

20 <210> 287
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VL FR2

<220>
 30 <221> VARIANTE
 <222> 11
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 35 <221> VARIANTE
 <222> 12
 <223> Xaa = Ser o Ala

<400> 287
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Xaa Xaa Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

40 <210> 288
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR2

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 12
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

55 <400> 288
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Xaa Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 289
 <211> 15
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VL FR2
 <220>
 <221> VARIANTE
 5 <222> 12
 <223> Xaa = Ser o Ala
 <220>
 <221> VARIANTE
 10 <222> 13
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 289
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Xaa Xaa Ile Tyr
 1 5 10 15
 15 <210> 290
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> VL FR2
 <220>
 25 <221> VARIANTE
 <222> 12
 <223> Xaa = Ser o Ala
 <220>
 30 <221> VARIANTE
 <222> 14
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 <400> 290
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Xaa Leu Xaa Tyr
 1 5 10 15
 35 <210> 291
 <211> 15
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VL FR2
 45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 12
 <223> Xaa = Ser o Ala
 50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 15
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
 55 <400> 291
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Xaa Leu Ile Xaa
 1 5 10 15
 <210> 292
 <211> 32
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>

<223> VL FR3

<220>
<221> VARIANTE
5 <222> 1
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
<221> VARIANTE
10 <222> 7
<223> Xaa = Ser o Thr

<220>
<221> VARIANTE
15 <222> 24
<223> Xaa = Pro o Ser

<220>
<221> VARIANTE
20 <222> 29
<223> Xaa = Asp o Thr

<220>
<221> VARIANTE
25 <222> 31
<223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 292
Xaa Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
20 25 30

30 <210> 293
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> VL FR3

<220>
40 <221> VARIANTE
<222> 2
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
45 <221> VARIANTE
<222> 7
<223> Xaa = Ser o Thr

<220>
50 <221> VARIANTE
<222> 24
<223> Xaa = Pro o Ser

<220>
55 <221> VARIANTE
<222> 29
<223> Xaa = Asp o Thr

<220>
60 <221> VARIANTE
<222> 31
<223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 293
 Gly Xaa Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

<210> 294
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3

<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7

<223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24

<223> Xaa = Pro o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29

<223> Xaa = Asp o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31

<223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 294
 Gly Val Xaa Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

<210> 295
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4

<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7

<223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24

<223> Xaa = Pro o Ser

<220>
<221> VARIANTE

5 <222> 29
<223> Xaa = Asp o Thr

<220>
<221> VARIANTE

10 <222> 31
<223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 295
 Gly Val Pro Xaa Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

15 <210> 296
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> VL FR3

<220>

25 <221> VARIANTE
<222> 5
<223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>

30 <221> VARIANTE
<222> 7
<223> Xaa = Ser o Thr

<220>

35 <221> VARIANTE
<222> 24
<223> Xaa = Pro o Ser

<220>

40 <221> VARIANTE
<222> 29
<223> Xaa = Asp o Thr

<220>

45 <221> VARIANTE
<222> 31
<223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 296
 Gly Val Pro Asp Xaa Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

50 <210> 297
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> VL FR3

60 <220>

<221> VARIANTE
 <222> 6
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

5 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

25 <400> 297
 Gly Val Pro Asp Arg Xaa Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

<210> 298
 <211> 32
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR3

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

60 <400> 298

Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Xaa	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Xaa	Glu	Asp	Phe	Ala	Xaa	Tyr	Xaa	Cys
			20					25					30		

<210> 299
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 8
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 299

Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Xaa	Xaa	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Xaa	Glu	Asp	Phe	Ala	Xaa	Tyr	Xaa	Cys
			20					25					30		

<210> 300
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 9
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 5 <223> Xaa = Asp o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 10 <223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 300
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Xaa Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

15 <210> 301
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> VL FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 25 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 30 <222> 10
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 35 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 40 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 45 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 301
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Xaa Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

50 <210> 302
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> VL FR3

<220>
 60 <221> VARIANTE

<222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

5 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 11
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

25 <400> 302
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Xaa Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

30 <210> 303
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 12
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

60 <400> 303

Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Xaa	Gly	Ser	Gly	Ser	Xaa	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Xaa	Glu	Asp	Phe	Ala	Xaa	Tyr	Xaa	Cys
			20					25					30		

<210> 304
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 13
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Xaa	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Xaa	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Xaa	Glu	Asp	Phe	Ala	Xaa	Tyr	Xaa	Cys
			20					25					30		

<210> 305
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 14
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 5 <223> Xaa = Asp o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 10 <223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 305
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Xaa Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

15 <210> 306
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> VL FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 25 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 30 <222> 15
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 35 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 40 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 45 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 306
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Xaa Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

50 <210> 307
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> VL FR3

<220>
 60 <221> VARIANTE

<222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

 <220>
 5 <221> VARIANTE
 <222> 16
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <220>
 10 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

 <220>
 15 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

 <220>
 20 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

 <400> 307
 25 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Xaa

 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

 <210> 308
 30 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 35 <223> VL FR3

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 40 <223> Xaa = Ser o Thr

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 17
 45 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 50 <223> Xaa = Pro o Ser

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 55 <223> Xaa = Asp o Thr

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 60 <223> Xaa = Phe o Tyr

 <400> 308

Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Xaa	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	
Xaa	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Xaa	Glu	Asp	Phe	Ala	Xaa	Tyr	Xaa	Cys
			20					25					30		

<210> 309
 <211> 32
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 18
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 309

Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Xaa	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	
Leu	Xaa	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Xaa	Glu	Asp	Phe	Ala	Xaa	Tyr	Xaa	Cys
			20					25					30		

<210> 310
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 19
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 5 <223> Xaa = Asp o Thr

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 10 <223> Xaa = Phe o Tyr

 <400> 310
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Xaa Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

 15 <210> 311
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 20 <220>
 <223> VL FR3

 <220>
 <221> VARIANTE
 25 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

 <220>
 <221> VARIANTE
 30 <222> 20
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <220>
 <221> VARIANTE
 35 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

 <220>
 <221> VARIANTE
 40 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

 <220>
 <221> VARIANTE
 45 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

 <400> 311
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Xaa Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

 50 <210> 312
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 55 <220>
 <223> VL FR3

 <220>
 <221> VARIANTE
 60 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

<222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

5 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 21
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 312
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Xaa Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

25 <210> 313
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR3

35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 22
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

60 <400> 313

Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Xaa	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Xaa	Gln	Xaa	Glu	Asp	Phe	Ala	Xaa	Tyr	Xaa	Cys
			20					25					30		

<210> 314
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 23
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 314															
Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Xaa	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Xaa	Xaa	Glu	Asp	Phe	Ala	Xaa	Tyr	Xaa	Cys
			20					25					30		

<210> 315
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 5 <223> Xaa = Phe o Tyr

 <400> 315
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 10 20 25 30

 <210> 316
 <211> 32
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VL FR3

 20 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

 25 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

 30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 25
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

 40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

 45 <400> 316
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Xaa Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

 <210> 317
 <211> 32
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> VL FR3

 55 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

 60 <220>

- <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser
- 5 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 26
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
- 10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr
- 15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr
- 20 <400> 317
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Xaa Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30
- <210> 318
 <211> 32
- 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
- <220>
 <223> VL FR3
- 30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr
- 35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser
- 40 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 27
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
- 45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr
- 50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr
- 55 <400> 318
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Xaa Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30
- <210> 319
 <211> 32
- 60

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 5 <223> VL FR3

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 10 <223> Xaa = Ser o Thr

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 15 <223> Xaa = Pro o Ser

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 28
 20 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 25 <223> Xaa = Asp o Thr

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 30 <223> Xaa = Phe o Tyr

 <400> 319
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Xaa Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30

 35 <210> 320
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 40 <220>
 <223> VL FR3

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 45 <223> Xaa = Ser o Thr

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 50 <223> Xaa = Pro o Ser

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 55 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 60 <223> Xaa = Phe o Tyr

 <400> 320

Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Xaa	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Xaa	Glu	Asp	Phe	Ala	Xaa	Tyr	Xaa	Cys
			20					25					30		

<210> 321
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 30
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 321															
Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Xaa	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Xaa	Glu	Asp	Phe	Ala	Xaa	Xaa	Xaa	Cys
			20					25					30		

<210> 322
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR3

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr

- <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 31
 5 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
- <400> 322
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Cys
 20 25 30
- 10 <210> 323
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
- 15 <220>
 <223> VL FR3
- <220>
 <221> VARIANTE
 20 <222> 7
 <223> Xaa = Ser o Thr
- <220>
 <221> VARIANTE
 25 <222> 24
 <223> Xaa = Pro o Ser
- <220>
 <221> VARIANTE
 30 <222> 29
 <223> Xaa = Asp o Thr
- <220>
 <221> VARIANTE
 35 <222> 31
 <223> Xaa = Phe o Tyr
- <220>
 <221> VARIANTE
 40 <222> 32
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
- <400> 323
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Xaa Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Xaa Glu Asp Phe Ala Xaa Tyr Xaa Xaa
 20 25 30
- 45 <210> 324
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
- 50 <220>
 <223> VL FR4
- <220>
 <221> VARIANTE
 55 <222> 1
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido
- <400> 324

Xaa Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

5 <210> 325
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> VL FR4

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 325
 Phe Xaa Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

20 <210> 326
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VL FR4

30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 326
 Phe Gly Xaa Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

35 <210> 327
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> VL FR4

45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 327
 Phe Gly Gly Xaa Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

50 <210> 328
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> VL FR4

60 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 328
 Phe Gly Gly Gly Xaa Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

5 <210> 329
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> VL FR4

<220>
 <221> VARIANTE

15 <222> 6
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 329
 Phe Gly Gly Gly Thr Xaa Val Glu Ile Lys
 1 5 10

20 <210> 330
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> VL FR4

<220>
 <221> VARIANTE

30 <222> 7
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 330
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Xaa Glu Ile Lys
 1 5 10

35 <210> 331
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> VL FR4

45 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 8
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

50 <400> 331
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Xaa Ile Lys
 1 5 10

<210> 332
 <211> 10

55 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR4

60 <220>
 <221> VARIANTE

<222> 9
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 332
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Xaa Lys
 5 1 5 10

<210> 333
 <211> 10
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> VL FR4

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

20 <400> 333
 220>
 <221> VARIANTE
 <222> 9
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

25 <400> 332
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Xaa Lys
 1 5 10

30 <210> 333
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> VL FR4

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 10
 40 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 333
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Xaa
 1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmunoespecíficamente a una región D4 del KIT humano, comprendiendo dicho anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo:

- (i) (a) una VL que comprende la secuencia de aminoácidos:

DIVMTQSPSPX_{K1}LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX
 K₂LIYSASYRYSQVDPDRFX_{K3}SGSGTDFTLTISLQX_{K4}EDFAX_{K5}YX_{K6}C
 QQYNSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 12),

en la que X_{K1} es un aminoácido con una cadena lateral aromática o hidroxilo alifática, X_{K2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática o hidroxilo alifática, X_{K3} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática, X_{K4} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática o es P, X_{K5} es un aminoácido con una cadena lateral cargada o ácida, y X_{K6} es un aminoácido con una cadena lateral aromática; y

- (b) una VH que comprende una CDR1 VH, una CDR2 VH y una CDR3 VH que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18, respectivamente;

- (ii) (a) una VL que comprende una CDR1 VL, una CDR2 VL y una CDR3 VL que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 21, respectivamente; y

- (b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos:

QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPG
 KGLEWIARIYPGSGNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LS
 SLRSEDX_{H8}AVYFCARGVYYFDYWGGQTTVTSS (SEQ ID NO: 11),

en la que X_{H1} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H3} es un aminoácido con una cadena lateral polar o básica, X_{H4} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H5} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H6} es un aminoácido con una cadena lateral ácida, X_{H7} es un aminoácido con una cadena lateral ácida o de derivación amídica, y X_{H8} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática; o

- (iii) (a) una VL que comprende la secuencia de aminoácidos:

DIVMTQSPSPX_{K1}LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX
 K₂LIYSASYRYSQVDPDRFX_{K3}SGSGTDFTLTISLQX_{K4}EDFAX_{K5}YX_{K6}C
 QQYNSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 12),

en la que X_{K1} es un aminoácido con una cadena lateral aromática o hidroxilo alifática, X_{K2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática o hidroxilo alifática, X_{K3} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática, X_{K4} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática o es P, X_{K5} es un aminoácido con una cadena lateral cargada o ácida, y X_{K6} es un aminoácido con una cadena lateral aromática; y

- (b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos:

QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPG
 KGLEWIARIYPGSGNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LS
 SLRSEDX_{H8}AVYFCARGVYYFDYWGGQTTVTSS (SEQ ID NO: 11),

en la que X_{H1} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H2} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H3} es un aminoácido con una cadena lateral polar o básica, X_{H4} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H5} es un aminoácido con una cadena lateral alifática, X_{H6} es un aminoácido con una cadena lateral ácida, X_{H7} es un aminoácido con una cadena lateral ácida o de derivación amídica, y X_{H8} es un aminoácido con una cadena lateral hidroxilo alifática,

inhibiendo el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, la fosforilación de la tirosina de KIT con una IC_{50} de aproximadamente 600 pM o menor determinada por ELISA, e

induciendo el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, la internalización del receptor KIT.

2. El anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 1 en el que:

- (i) X_{K1} es el aminoácido F o S, X_{K2} es el aminoácido A o S, X_{K3} es el aminoácido T o S, X_{K4} es el aminoácido S o P, X_{K5} es el aminoácido D o T, y X_{K6} es el aminoácido F o Y;
- (ii) X_{H1} es el aminoácido L o V, X_{H2} es el aminoácido L o V, X_{H3} es el aminoácido K o R, X_{H4} es el aminoácido V o A, X_{H5} es el aminoácido L o I, X_{H6} es el aminoácido E o D, X_{H7} es el aminoácido Q o E, y X_{H8} es el aminoácido S o T; o
- (iii) X_{K1} es el aminoácido F o S, X_{K2} es el aminoácido A o S, X_{K3} es el aminoácido T o S, X_{K4} es el aminoácido S o P, X_{K5} es el aminoácido D o T, X_{K6} es el aminoácido F o Y, X_{H1} es el aminoácido L o V, X_{H2} es el aminoácido L o V, X_{H3} es el aminoácido K o R, X_{H4} es el aminoácido V o A, X_{H5} es el aminoácido L o I, X_{H6} es el aminoácido E o D, X_{H7} es el aminoácido Q o E, y X_{H8} es el aminoácido S o T.

3. El anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 1 o 2 en el que:

- (i) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 88% idéntica a la SEQ ID NO: 8 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90% idéntica a la SEQ ID NO: 4;
- (ii) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 84% idéntica a la SEQ ID NO: 10 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 92% idéntica a la SEQ ID NO: 3;
- (iii) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 88% idéntica a la SEQ ID NO: 8 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 86% idéntica a la SEQ ID NO: 6;
- (iv) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90% idéntica a la SEQ ID NO: 7 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 87% idéntica a la SEQ ID NO: 5;
- (v) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90% idéntica a la SEQ ID NO: 7 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 93% idéntica a la SEQ ID NO: 2;
- (vi) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90% idéntica a la SEQ ID NO: 7 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 92% idéntica a la SEQ ID NO: 3;
- (vii) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90% idéntica a la SEQ ID NO: 7 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90% idéntica a la SEQ ID NO: 4;
- (viii) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90% idéntica a la SEQ ID NO: 7 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 86% idéntica a la SEQ ID NO: 6;
- (ix) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 88% idéntica a la SEQ ID NO: 8 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 93% idéntica a la SEQ ID NO: 2;
- (x) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 88% idéntica a la SEQ ID NO: 8 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 92% idéntica a la SEQ ID NO: 3;
- (xi) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 88% idéntica a la SEQ ID NO: 8 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 87% idéntica a la SEQ ID NO: 5;
- (xii) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 87% idéntica a la SEQ ID NO: 9 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 93% idéntica a la SEQ ID NO: 2;
- (xiii) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 87% idéntica a la SEQ ID NO: 9 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 92% idéntica a la SEQ ID NO: 3;
- (xiv) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 87% idéntica a la SEQ ID NO: 9 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90% idéntica a la SEQ ID NO: 4;
- (xv) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90% idéntica a la SEQ ID NO: 9 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 87% idéntica a la SEQ ID NO: 5;
- (xvi) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90% idéntica a la SEQ ID NO: 9 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 86% idéntica a la SEQ ID NO: 6;
- (xvii) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 84% idéntica a la SEQ ID NO: 10 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 93% idéntica a la SEQ ID NO: 2;
- (xviii) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 84% idéntica a la SEQ ID NO: 10 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90% idéntica a la SEQ ID NO: 4;
- (xix) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 84% idéntica a la SEQ ID NO: 10 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 87% idéntica a la SEQ ID NO: 5; o
- (xx) la VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 84% idéntica a la SEQ ID NO: 10 y la VH comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 86% idéntica a la SEQ ID NO: 6.

4. Un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une inmuno-específicamente a una región D4 del KIT humano, comprendiendo dicho anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo:

- (i) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;
- (ii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3;
- (iii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6;

- (iv) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;
- (v) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;
- 5 (vi) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3;
- (vii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;
- 10 (viii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6;
- (ix) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;
- (x) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3;
- 15 (xi) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;
- (xii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;
- 20 (xiii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3;
- (xiv) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;
- (xv) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;
- 25 (xvi) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6;
- (xvii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;
- 30 (xviii) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;
- (xix) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; o
- (xx) la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.
- 35 **5.** El anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en el que el anticuerpo comprende una región constante de cadena ligera humana y una región constante de cadena pesada humana.
- 6.** El anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 5 en el que la región constante de cadena pesada humana es una región constante de cadena pesada gamma humana.
- 40 **7.** El anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 5 en el que la región constante de cadena ligera humana es una región constante de cadena ligera kappa humana.
- 8.** El anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 5 en el que la región constante de cadena pesada humana es una región constante de cadena pesada gamma humana y la región constante de cadena ligera humana es una región de cadena ligera kappa humana.
- 45 **9.** El anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones 5-8 en el que el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano.
- 10.** El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 en el que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
- 50 **11.** El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 en el que el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico.
- 12.** El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 en el que el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo está fusionado a un polipéptido heterólogo.
- 13.** El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 en el que el anticuerpo es un anticuerpo de longitud máxima.
- 55 **14.** Un conjugado que comprende el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 ligado a un agente.

15. El conjugado de la reivindicación 14 en el que el agente es una toxina.
16. El conjugado de la reivindicación 15 en el que la toxina es abrina, ricina A, exotosina pseudomonas, toxina del cólera o toxina de la difteria.
- 5 17. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, o el conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 14-17, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
18. Un polinucleótido o una combinación de polinucleótidos que comprende secuencias de nucleótidos que codifican el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.
- 10 19. Un vector o una combinación de vectores que comprende el polinucleótido o la combinación de polinucleótidos de la reivindicación 18.
20. El vector de la reivindicación 19 en el que el vector es un vector de expresión en mamíferos.
21. Una célula anfitriona que comprende el vector de la reivindicación 19 o 20 o el polinucleótido o la combinación de polinucleótidos de la reivindicación 18.
- 15 22. Un equipo de reactivos que comprende el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, o el conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 14-16.
23. Un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, o el conjugado según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 14-16, para ser usado en un método de tratamiento o gestión del cáncer, el asma, una afección inflamatoria o la fibrosis.
- 20 24. El anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, para ser usado, o el conjugado para ser usado, de la reivindicación 23, en la que el cáncer es leucemia, leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia mieloide crónica, cáncer de pulmón, cáncer microcítico de pulmón o tumores estromales gastrointestinales; o el cáncer es refractario al tratamiento con un inhibidor de la tirosina quinasa.
- 25 25. El anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo para ser usado, o el conjugado para ser usado, de la reivindicación 24, en el que el inhibidor de la tirosina quinasa es mesilato de imatinib o SU11248.
26. El anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo para ser usado, o el conjugado para ser usado, de una cualquiera de las reivindicaciones 23-25 en el que dicho método comprende, además, la administración de un segundo agente terapéutico.
- 30 27. El anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo para ser usado, o el conjugado para ser usado, de la reivindicación 26 en el que dicho segundo agente terapéutico es un agente quimioterapéutico, un inhibidor de la histona deacetilasa, un anticuerpo, una citoquina o un inhibidor de la tirosina quinasa.
28. El anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo para ser usado, o el conjugado para ser usado, de la reivindicación 27 en el que el inhibidor de la tirosina quinasa es mesilato de imatinib o SU11248.
- 35 29. Un método *in vitro* para el diagnóstico de un sujeto con un trastorno asociado con KIT, comprendiendo el método poner las células o la muestra obtenidas del sujeto en contacto con el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, y detectar el nivel de expresión de KIT en las células o la muestra.
- 40 30. Un método de creación de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une inmunoespecíficamente a una región D4 del KIT humano, comprendiendo dicho método cultivar y/o expresar el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo usando la célula de la reivindicación 21.
31. El método de la reivindicación 30 que, además, comprende purificar el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, obtenido de dicha célula.

1 MAGARGANDP LCWLLLLRV QGSSQSGVS PCPSPEPIH POKSLIVRY GDIRILLCTD PGVPRTERI LDETENKQW
 81 EWITERAZET NTGKYTCINK HOLENEIYVY VRDPARKLY DRSUYKSON DILVACPLVD FEVNYISLKG CQCKLKPXL
 161 RPTDCKKKEI MINSYKRAYH NCLHCEVDQ SGRSVLSERF ILKVRPAPRA YPVVSVSRAS VLLRGESEFT VTCTIKTVSS
 241 SVYSTWKENN SQYKLOKYN SWEHEDENYB KOATLTISSA KYNDSQVEMC YANNYFUSAN VTTILXVDM GFINIFPMYN
 321 TVPYRDEEN VDLIVYKAF PAPERQWYI MWRFTOKNE OYKSNESM INYVSELNLT HLKGTGGTY TELVNSDNW
 401 AXAFWVVM TKREILLTDR LYNOLQCVB AGPEPTIDW YPCPTQRC SASVLPVDVQ TLNMSGPPPS KLVVQSSIDG
 481 SARXNGTVE CKABDVGKT SAYHYAFER QIHHSRFTP LLIQPVYUC MNCIIVMLIT YRYLQKPMIS VQWKVVEEIN
 561 GNNYVYIDPT QLPYDHRKEP FERNLESEET LGAGAPGVV EATAYALKLS DAAWTVAVYM LKPSRHGTER BALMSELKVL
 641 SYLGNRSMYV NLLSACTIGO PFLVITZYOC YODLINFLRR KSEEFICSKQ SDHAEALAYK NLLNEXSSC SDSTNRYMDW
 721 KXGVSVVAPT KADKRSVRL GSVYHRDYP AIMEDDEAL DLEDLLEPSY CWAKKAPLA SANCINMIA ASNILLTGR
 801 ITKICDFELA RDIKNSNYV YRONARLPYK MWAPESIYMC VYTFESDWS YGIFLWELNS LGSSPYPCMP VDSKPYKMK
 881 SGERNLSEPH APAMTIDMK TOWUADPLR PTFKQIVOLI EKQISESTH IYSNLANCSE NROKPVVDSH VRINSVCGTA
 961 SSSQPELLVKS DV 1582 ID NO: 11

Fig. 1

Antígeno D4/D5 del KIT (SEQ ID NO: 14): M1-E33 + V308-H515 (SEQ ID NO: 73) + 5 x His

```
1  MRGARGAWDF  LCVLLLLLLRV  QTGSSQPSVS  PGEVDKGFIN  IFPMINTTVF  VNDGENVDLI
61  VEYEAFFPKPE  HQQWIYMNRT  FTDKWEDYPK  SENESNIRYV  SELHLTRLKG  TEGGTYTFLV
121 SNSDVNAAIA  FNVYVNTKPE  ILTYDRLVNG  MLQCVAAAGFP  EPTIDWYFCP  GTEQRCSASV
181 LPVDVQTLNS  SGPPEGKLVV  QSSIDSSAFK  HNGTVECKAY  NDVGKTSAYF  NFAFKEQIHP
241 HHHHHH
```

Fig. 2

dominio H1 VH

```

FR1      10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
CAGGTCAGTGTGTCAGTGTGGGCTGAGCTGAGGACCTGGGACCTCAGTGAAGCTGTCTGCAGAGGCTCTGGTACTTTCACAGTACTACTATA
Q V Q L V Q S G A E L K K P G A S V K L S C K A S G Y T F T D Y Y
1      10      20      30
1      10      20      30
FR2      CDR2      FR3
110      120      130      140      150      160      170      180      190      200
TAACTGGTGAAGCAGGCGCCCTGGAGAGGACCTTGAAGGATTACCTGGAACTGTAATCTACTACTAGAGAGTTCAAGGGCA
I N W V K Q A P G K G L E W T A R I Y P G S G N T Y Y N E K F K G R
40      50      60
40      50
CDR3
210      220      230      240      250      260      270      280      290      300
GCCACACTGACTGCAGAAAATCCACAGACACCTTACATGCAGCTCAGCAGCTGAGATCTGAGAGACTCTGCTTATTTCTGTCAGAGGGGGTG
A T L T A E K S T S T A Y M Q L S S L R S E D S A V Y F C A R G V
70      80      90      100
FR4
310      320      330      340
TACTACTTGACTACTGGGGCCAGGGACACTGTACACTCTCTCA
Y Y F D Y W G Q G T T V T V S S
99/101      110
110
(Numeración de Kabat)
(Numeración numérica)

```

Fig. 3A

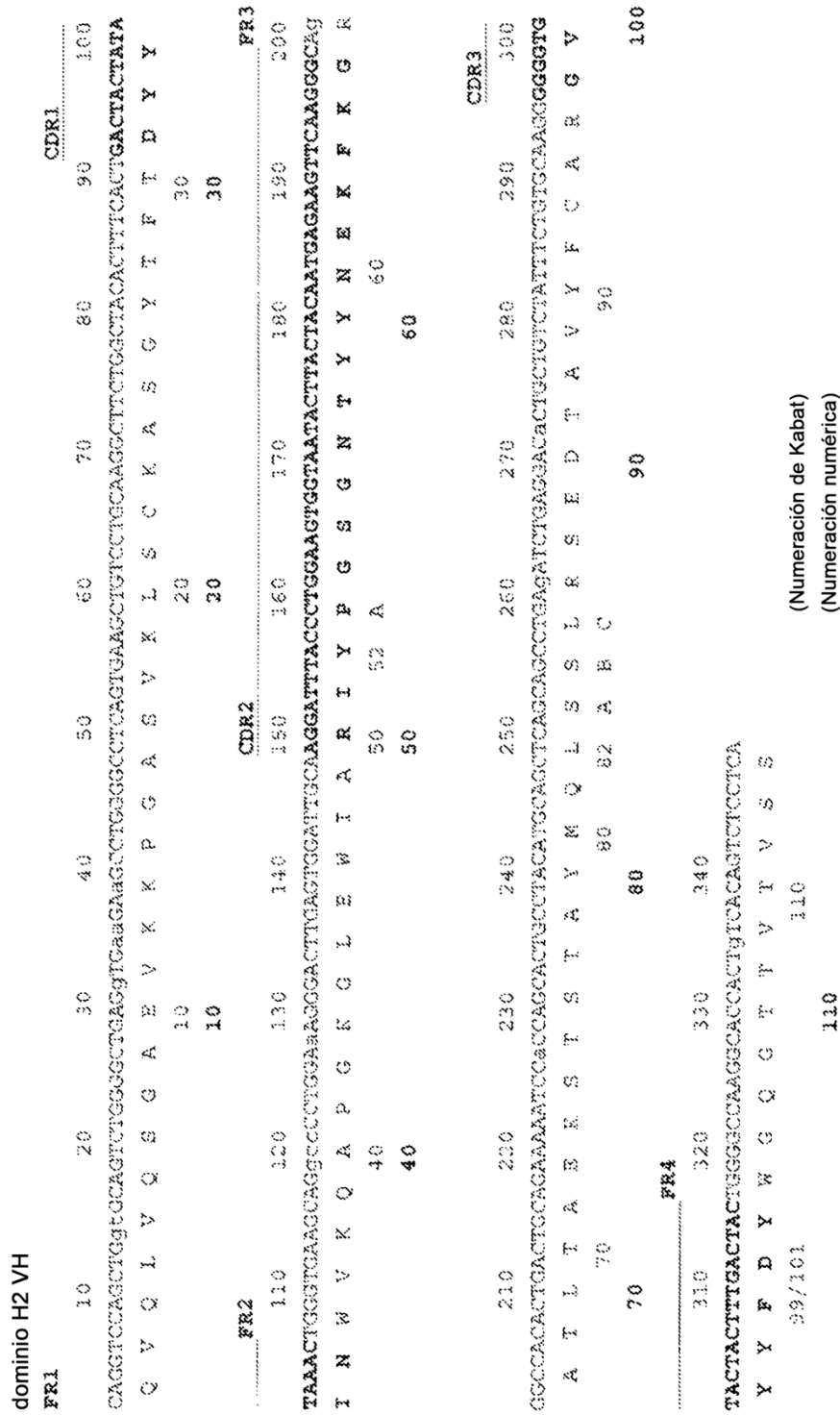


Fig. 3B

dominio H4 VH

```

FR1      10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
          CDR1
CAGGTCACAGCTGtUSCACTCTGGGSCCTGAGGAGGCTCAGTGAAGTGTCTCTGCAAGCTTCTGCTACACTTTCACTGACTACTATA
Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T D Y Y
          10      20      30

FR2      10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
          CDR2
TAACTGGCTGAGGAGGCTCCCTGGAAAGGACTTCTGCTGCAATTCAGGATTTACCTGGAGTGTGTAATACTTACTACAAATGAGAGTTCAAGGGGAG
I N W V K Q A P G K G L E W I A R I Y P G S G N T Y Y N E K F K G R
          40      50      60

          CDR3
GGCCACAAATCACTGCAGACAAATTCACACACTGCTGCTACATGAGTCAAGCAGCCTGAGATCTGAGGACaCTGCTGTCTATTTCTGTCACAGGGGTG
A T I T A D K S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y F C A R G V
          70      80      90     100

          FR4
          310     320     330     340
TACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGACCACTTTCACAGTCTCTCTCA
Y Y F D Y W G Q G T T V T V S S
          99/101
          110
          (Numeración de Kabat)
          (Numeración numérica)

```

Fig. 3D

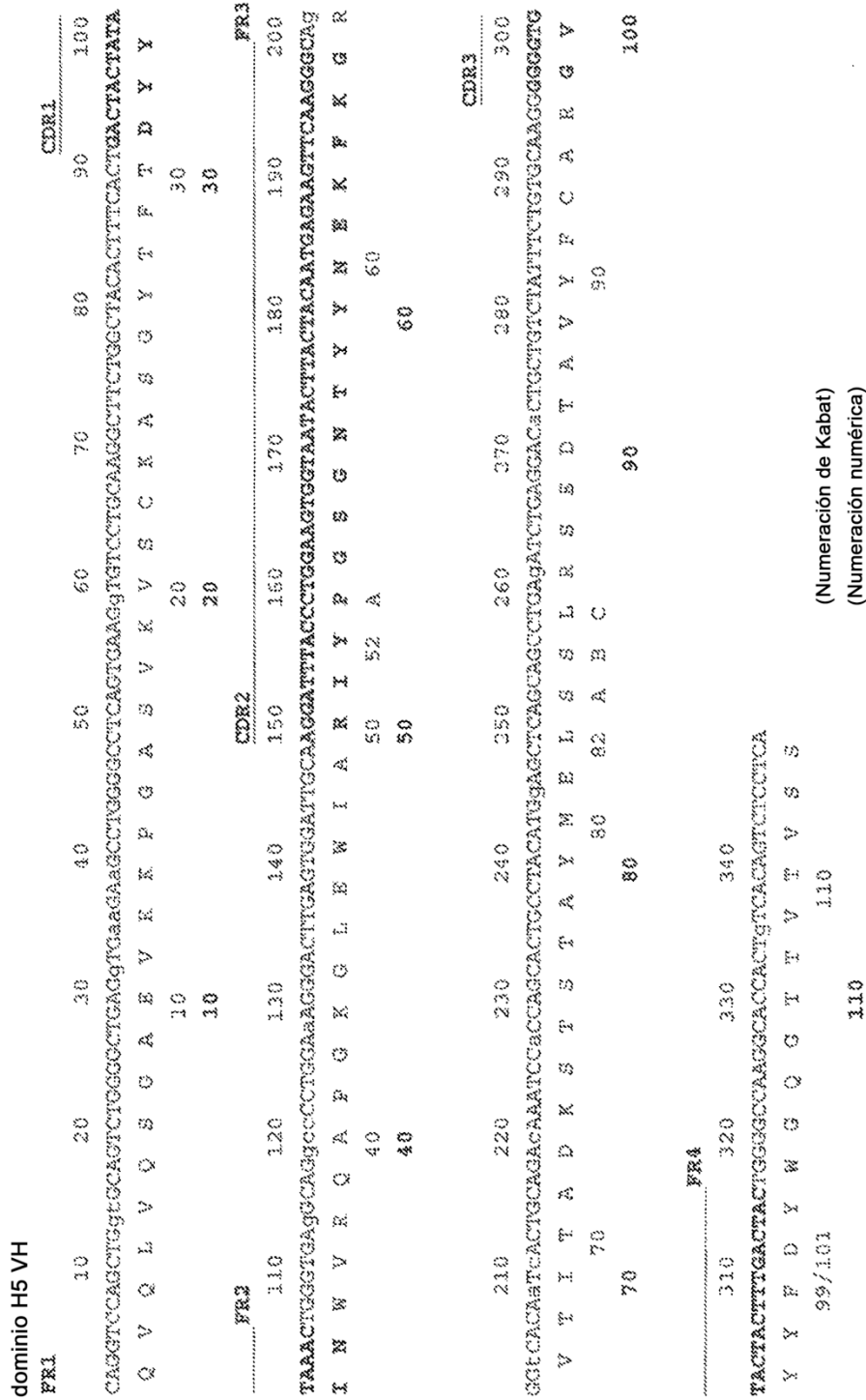


Fig. 3E

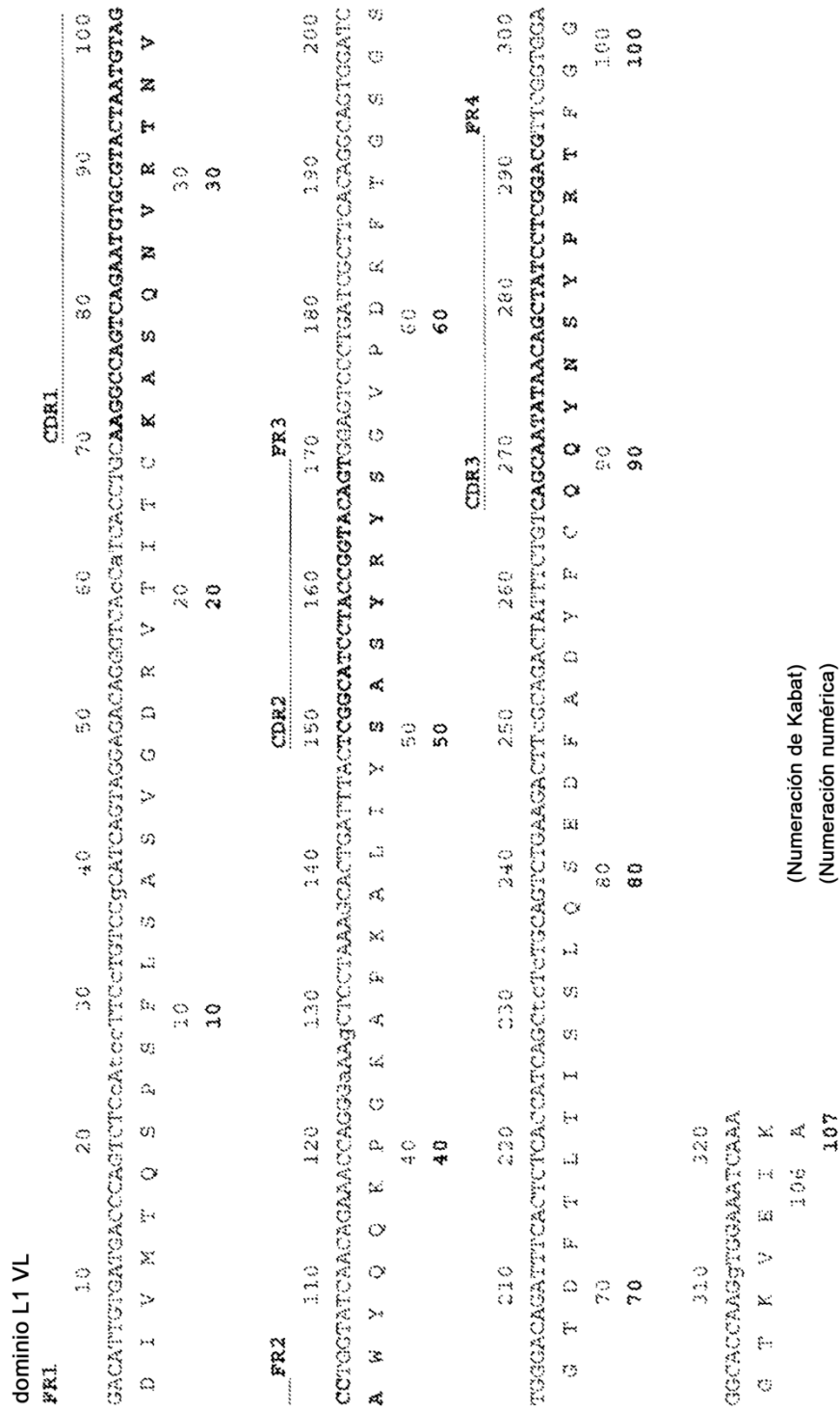


Fig. 3F

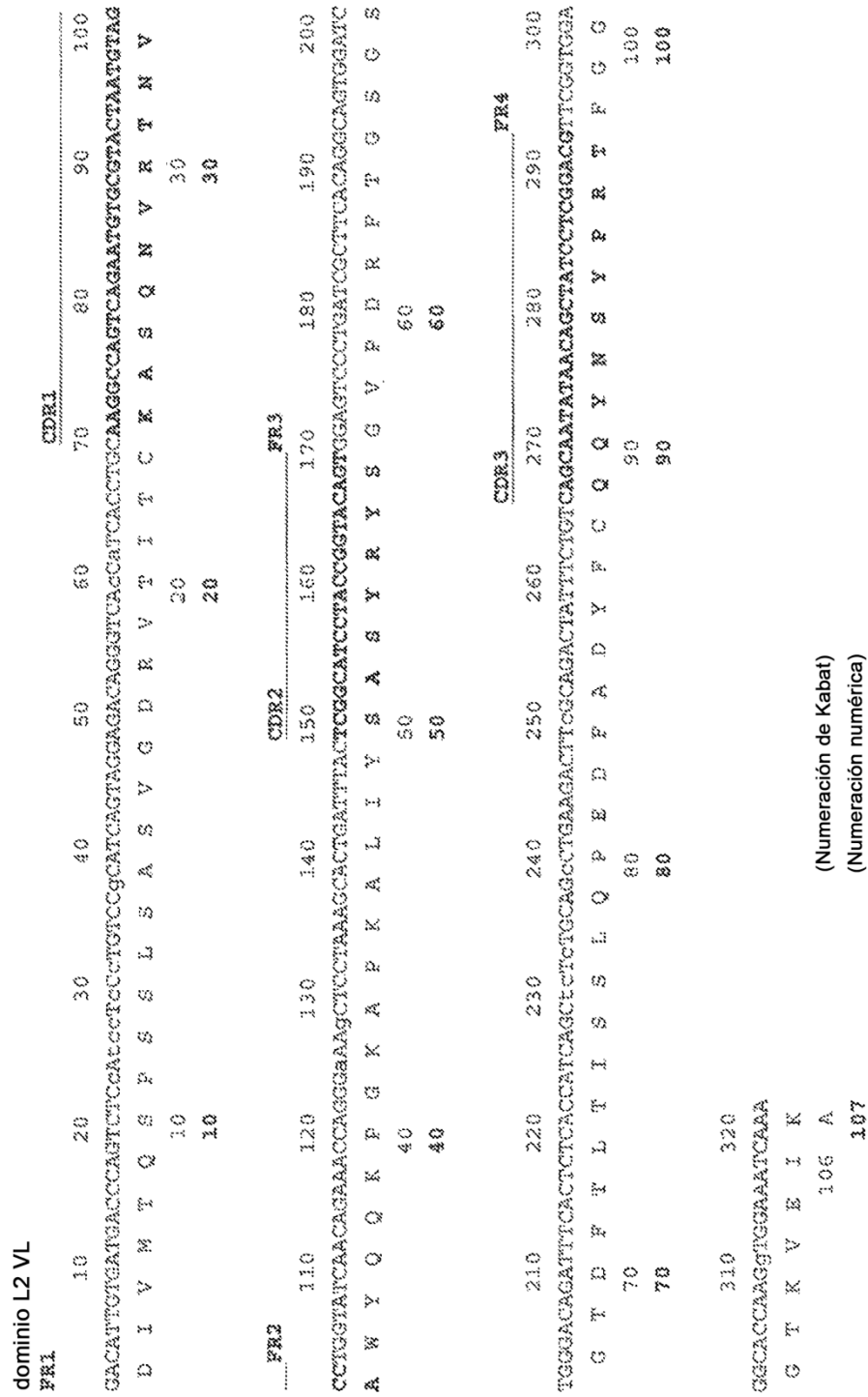


Fig. 3G

```

FR1
10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
GACATTTGATGACCCAGTCTGATCCTCCTGTCGTCATCAGTACAGACAGGGTACCTCAGCTTCAGCTCAGAAATGTGCGTACTAATGTAG
D I V M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q N V R T N V
10 20 30
10 20 30

FR2
110 120 130 140 150 160 170 180 190 200
CTGGTATCAGACAAACCCAGGaaAGCTCCTAAGCACTGATTACTCGGCATCTCACCAGTACAGTGGAGTCCCTTCAGGCGCAATGGATC
A W Y Q Q K P G K A F K A L I Y S A S Y R Y S G V P D R F S G S G S
40 50 60
40 50 60

FR3
210 220 230 240 250 260 270 280 290 300
TGGACAGATTTCATCTCACCATCAGCTCTCTGCAGCCGTCAGACTTCGCAGACTATTCTGTGCAGCAATATAACAGTATCTCTCGGAGCTTCGGTGGGA
G T D F T L T I S S L Q P E D F A D Y F C Q Q Y N S Y P R T F G G
70 80 90 100
70 80 90 100

FR4
310 320
GGCACCAAGTGGAAATCAAA
G T K V E I K
106 A 107

```

Fig. 3.

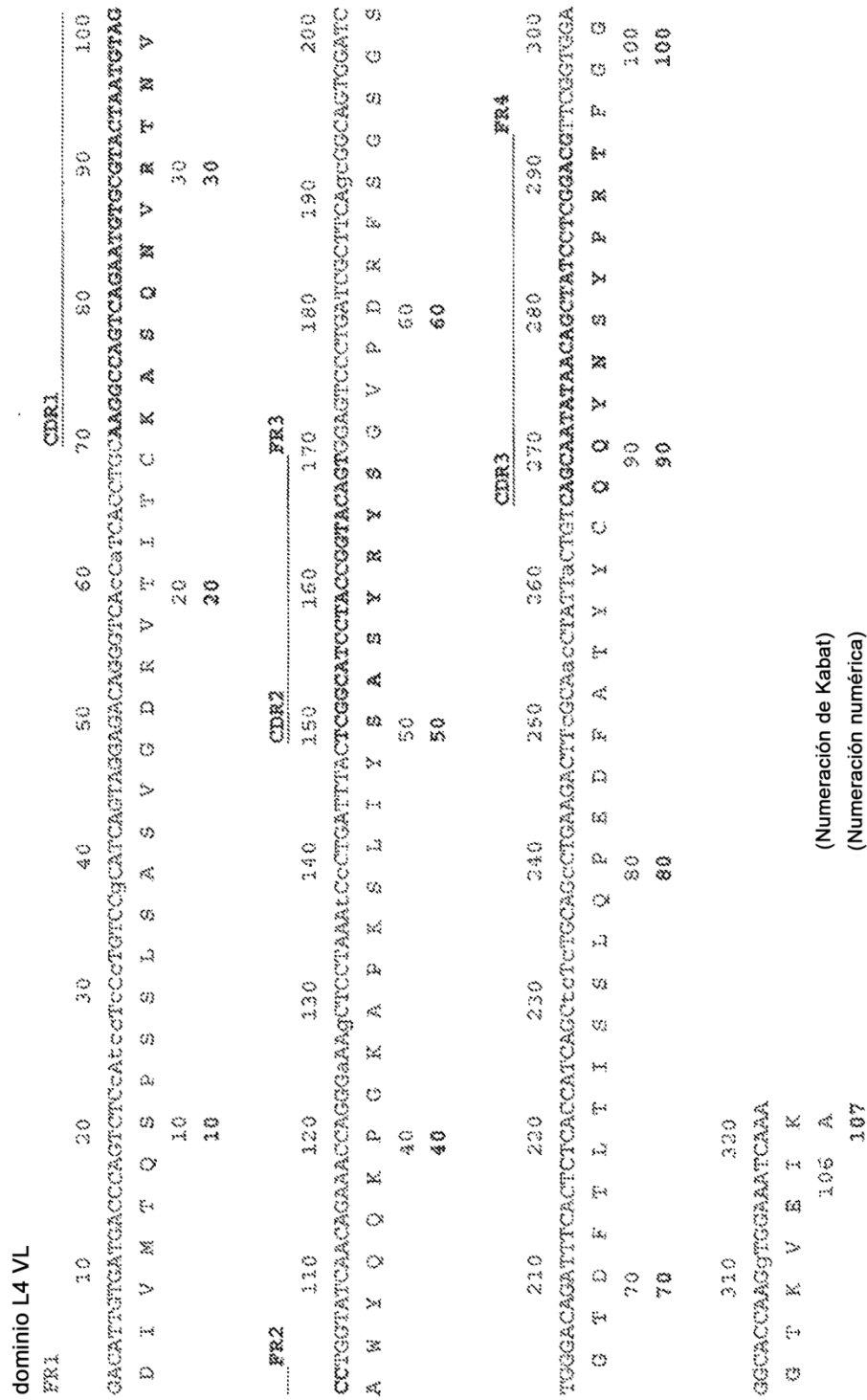


Fig. 3I

QVQLVQSGAEX_{H1} KPGASVKX_{H2} SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3} QAPGKGLEWIAIRIYPGSGNTYYNEKI
KGRX_{H4} TX_{H5} TAX_{H6} KSTSTAYMX_{H7} LSSLRSEDX_{H8} AVYFCARGVYYFDYWGGT'TVTVSS

Fig. 4A

DIVMTQSPSX_{K1} LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_{K2} LIYSASYRYSGVDPDRFX_{K3} C
SGSGTDFTLTISSLQX_{K4} EDFAX_{K5} YX_{K6} CQQYNSYPRTFGGGTKVEIK

Fig. 4B

Unión a D4/D5 del KIT

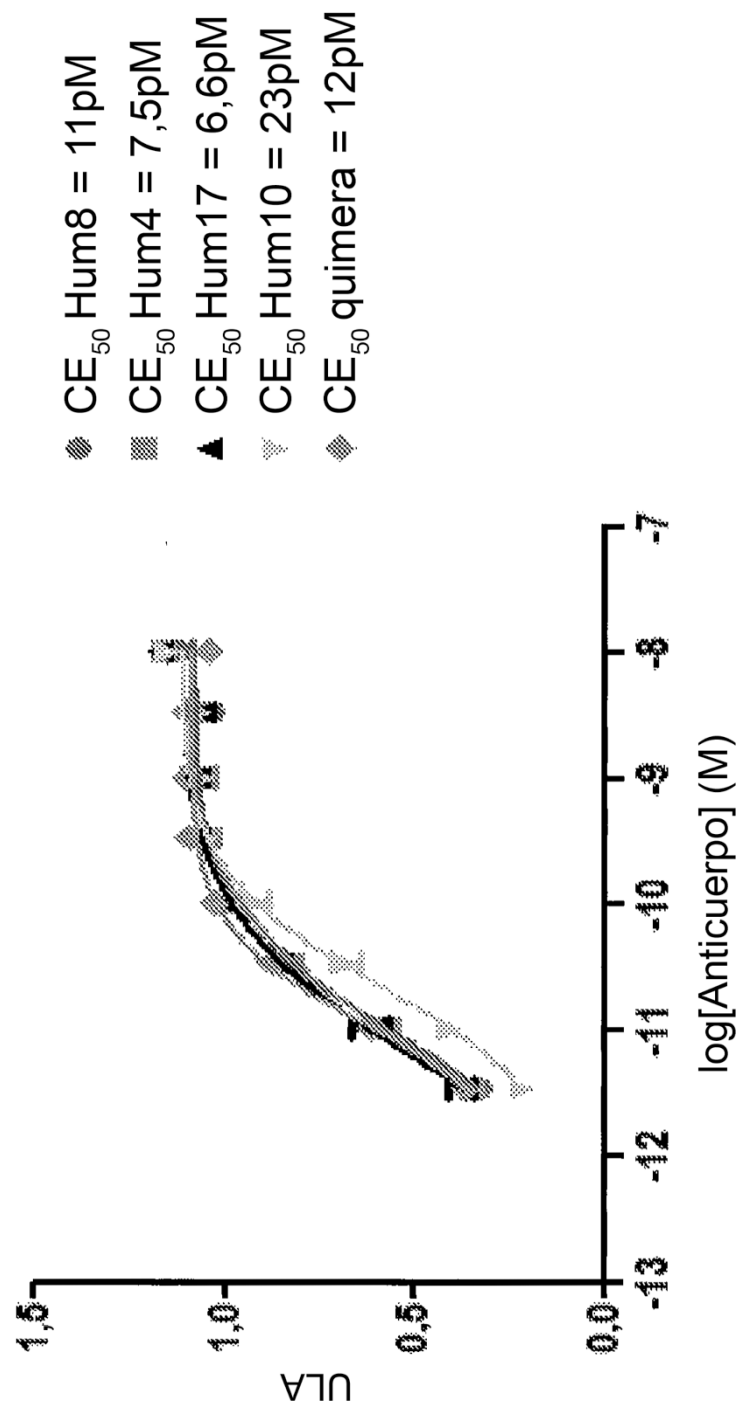


Fig. 5

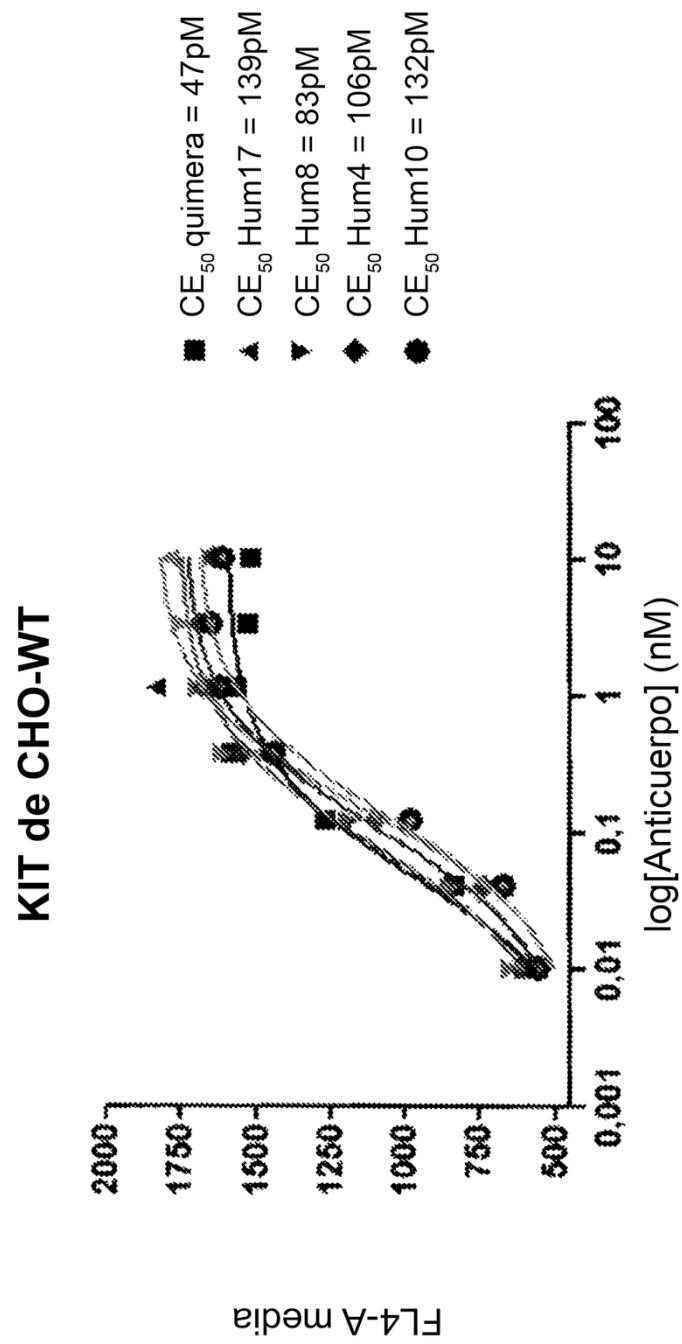


Fig. 6

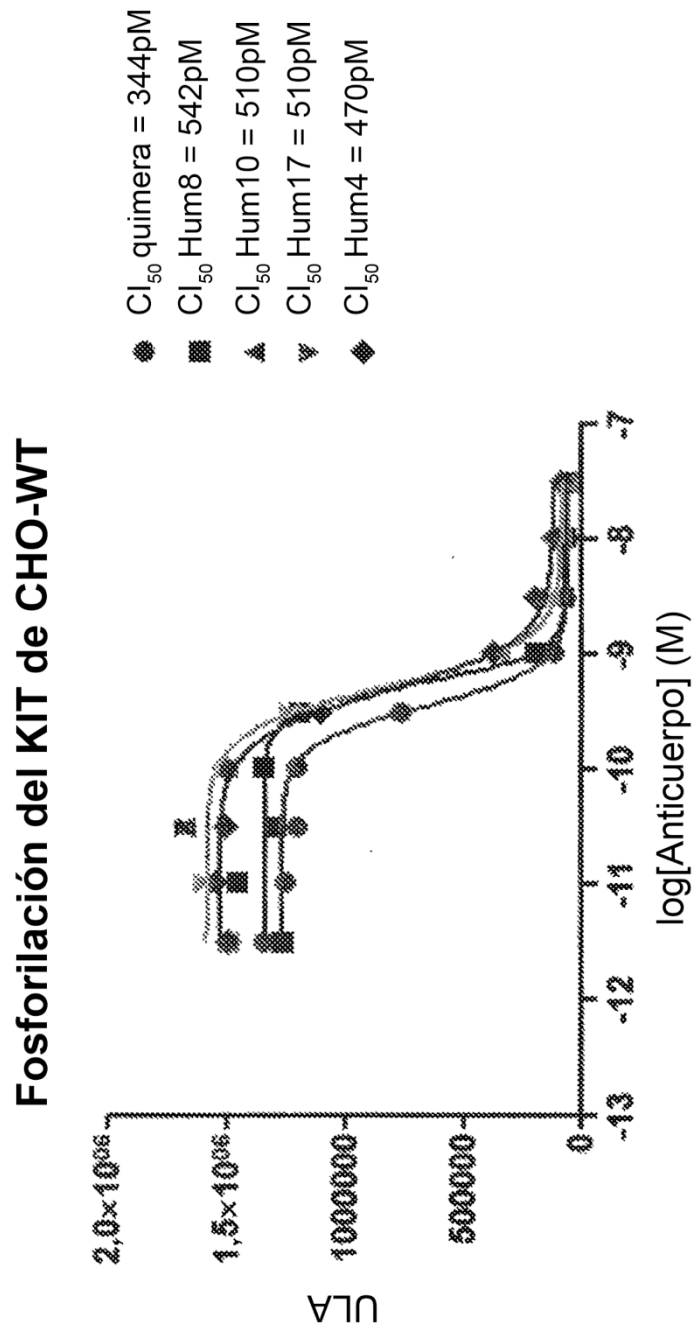


Fig. 7