

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 674 420**

51 Int. Cl.:

<b>C07K 16/30</b>	(2006.01)
<b>A61K 39/395</b>	(2006.01)
<b>A61P 35/00</b>	(2006.01)
<b>C12N 15/02</b>	(2006.01)
<b>C12Q 1/02</b>	(2006.01)
<b>C12Q 1/68</b>	(2008.01)
<b>G01N 33/50</b>	(2006.01)
<b>G01N 33/574</b>	(2006.01)
<b>G01N 33/68</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.01.2011 PCT/JP2011/000485**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **04.08.2011 WO11093097**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.01.2011 E 11736812 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.04.2018 EP 2530091**

54 Título: **Anticuerpos anti-DLL3**

30 Prioridad:

**29.01.2010 JP 2010019391**

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

**29.06.2018**

73 Titular/es:

**CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA (50.0%)  
5-1, Ukima 5-chome Kita-ku  
Tokyo 115-8543, JP y  
THE UNIVERSITY OF TOKYO (50.0%)**

72 Inventor/es:

**YOSHIDA, KENJI;  
ABURATANI, HIROYUKI y  
ISHIKAWA, SHUMPEI**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 674 420 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-DLL3

**5 Campo de la invención**

La presente solicitud reivindica la prioridad basada en la solicitud de patente japonesa N.º 2010-019391 (presentada el 29 de enero de 2010).

10 La presente invención se refiere a un agente anticanceroso

**Antecedentes de la técnica**

15 El cáncer de pulmón microcítico representa aproximadamente el 20 % de la incidencia global de cáncer de pulmón. El cáncer de pulmón microcítico progresa rápidamente y es difícil extirparlo quirúrgicamente porque en muchos casos la metástasis a los ganglios linfáticos o la metástasis a distancia ya se ha producido en el momento del diagnóstico. Este cáncer muestra altas tasas de respuesta a un agente anticanceroso en su etapa inicial. Por lo tanto, la quimioterapia se considera la primera opción para tratar el cáncer. El cáncer, sin embargo, se vuelve resistente inmediatamente a la quimioterapia y reaparece, lo que resulta en una tasa de supervivencia a los 3 años del 5 % o inferior. Por lo tanto, existe necesidad de una nueva terapia.

20 La proteína delta-like 3 (DLL3) es una proteína de membrana de tipo I que pertenece a la familia de ligandos de Notch. DLL3 es necesaria para la formación y desarrollo del patrón normal de somitas. Las mutaciones en DLL3 provocan defectos costales o espondilolisis en pacientes con disostosis espondilocostal autosómica recesiva [Bibliografía No de patente 1 y 2]. DLL1 se localiza en la superficie de la célula y se une a Notch, mientras que DLL3 se localiza predominantemente en el aparato de Golgi y no se une a Notch [Bibliografía No de patente 3 y 4].

30 Existen estudios previos que describen la amplificación del gen DLL3 en el cromosoma y el aumento de la expresión de este gen en líneas celulares de cáncer de páncreas [Literatura No de patente 5] y una mayor expresión de DLL3 en algunos casos de glioma [Literatura No de patente 6]. Sin embargo, la cantidad de proteína DLL3 en la superficie celular todavía no se ha descrito. Se requiere la expresión de  $10^5$  o más moléculas de antígeno para moléculas de anticuerpos no modificados o incluso del orden de  $10^4$  moléculas de antígeno para los anticuerpos defucosilados que tienen una mayor capacidad de inducir citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), para dirigir las moléculas de antígeno en la superficie celular usando tales anticuerpos o para destruir células cancerosas mediante el mecanismo antitumoral de la actividad ADCC [Literatura No de patente 7]. Por lo tanto, no está claro si DLL3 es adecuado como diana terapéutica basada en anticuerpos.

40 Los anticuerpos monoclonales anti-DLL3 de ratón (MAB4315, R&D Systems, Inc.) ya están comercializados como reactivos de investigación.

**Lista de citas****Bibliografía No de patente**

- 45 Bibliografía No de patente 1: Bulman, M. P. et al. (2000) Nat Genet 24, 438-441.  
 Bibliografía No de patente 2: Turnpenny, P. D. et al. (2003) J Med Genet 40, 333-339.  
 Bibliografía No de patente 3: Geffers, I. et al. (2007) J Cell Biol 178, 465-476.  
 Bibliografía No de patente 4: Ladi, E. et al. (2005) J Cell Biol 170, 983-992.  
 Bibliografía No de patente 5: Phillips, H. S. (2006) Cancer Cell 9, 157-173.  
 50 Bibliografía No de patente 6: Mulledndore, M. E. (2009) Clin Cancer Res 15, 2291-2301.  
 Bibliografía No de patente 7: Kenya Shitara (2009) YAKUGAKU ZASSHI 129, 3-9.

Los siguientes documentos adicionales también se mencionan:

- 55 • Millipore "Anti-Delta 3, clon 1E7.2", cita de Internet, páginas 1-3, XP002697359;  
 • Tianyun et al (2009) Cancer Research, 69 (3): 845-854 que se refiere al homólogo del complejo Achaete-Scute 1 como regulador de la capacidad de iniciación tumoral en el cáncer de pulmón microcítico humano; y  
 • WO2007/111733 que se refiere a métodos para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del glioma.

**60 Resumen de la invención****Problema técnico**

65 Un objeto de la presente invención es proporcionar un nuevo anticuerpo, un agente anticanceroso que comprende el mismo, y un método para diagnosticar el cáncer usando el mismo.

**Solución al problema**

Los presentes inventores encontraron que la expresión del ARNm de DLL3 aumentaba en el cáncer de pulmón microcítico. Su expresión fue baja en todos los tejidos normales a excepción del cerebro fetal. Los presentes inventores prepararon anticuerpos monoclonales contra la proteína DLL3. El nivel de antígeno en la superficie celular medido en función de la capacidad de unión al anticuerpo fue solo inferior a  $10^4$  por célula con expresión. Inesperadamente, los presentes inventores encontraron que un anticuerpo que se unía a DLL3 a través de un epítipo característico en las proximidades del extremo C del dominio extracelular residía de manera estable en la membrana celular y tenía una actividad inductora de ADCC. Específicamente, los presentes inventores seleccionaron sucesivamente un anticuerpo que tiene una actividad antitumoral. Además, los presentes inventores encontraron que un anticuerpo conjugado con toxina tenía una actividad citotóxica contra células que expresan DLL3. A partir de estos hallazgos, los presentes inventores encontraron que el anticuerpo anti-DLL3 era útil en el diagnóstico, prevención y tratamiento del cáncer primario o metastásico que expresaba DLL3. En base a estos hallazgos, se ha completado la presente invención.

Por consiguiente, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo que se une a la proteína DLL3 como un principio activo, en la que el anticuerpo tiene una actividad citotóxica. La presente invención proporciona además una composición farmacéutica de la invención para su uso en un método para tratar el cáncer, en la que el agente anticanceroso se dirige al cáncer de pulmón.

La composición farmacéutica de la presente invención comprende un anticuerpo que se une a la proteína DLL3, en la que el anticuerpo tiene una actividad citotóxica. De forma particularmente preferible, la actividad citotóxica es una actividad citotóxica celular dependiente de anticuerpos (actividad ADCC). También preferiblemente, el anticuerpo tiene una actividad de internalización. También preferiblemente, el anticuerpo está conjugado con una sustancia citotóxica. También preferiblemente, el anticuerpo reconoce una región de los aminoácidos 216 a 492 en la DLL3 humana que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 1.

En otro aspecto, la composición farmacéutica de la invención comprende un anticuerpo seleccionado de anticuerpos que se unen a la proteína DLL3 descrita en cualquiera de los siguientes:

(1) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 12, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 13 y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 14, y una región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 18, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 19, y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 20;

(2) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 24, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 25 y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 26, y una región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 30, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 31, y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 32;

(3) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 36, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 37 y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 38, y una región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 42, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 43, y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 44;

(4) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 48, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 49 y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 50, y una región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 54, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 55 y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 56;

y

(5) un anticuerpo que se une al mismo epítipo que el de la proteína DLL3 al que se une cualquiera de los anticuerpos (1) a (4).

Una composición farmacéutica de la presente invención puede comprender cualquiera de los anticuerpos descritos anteriormente como un principio activo que se une a DLL3 y tiene actividad citotóxica. La presente invención también proporciona el uso de una composición farmacéutica de la invención en un método para tratar el cáncer, en el que el agente anticanceroso se dirige al cáncer de pulmón.

También se hace referencia a un método para diagnosticar el cáncer, que comprende las siguientes etapas:

- (a) proporcionar una muestra aislada de un sujeto de prueba; y  
 (b) detectar el nivel de expresión de la proteína DLL3 o del gen DLL3 en la muestra. Preferiblemente, el método de diagnóstico está destinado al diagnóstico del cáncer de pulmón. También se hace referencia a un agente de diagnóstico para el cáncer que comprende cualquiera de los anticuerpos descritos anteriormente.

**Breve descripción de los dibujos**

- [Figura 1] La Figura 1 muestra una mayor expresión de DLL3 en el cáncer de pulmón microcítico y en el cerebro del feto.  
 [Figura 2] La Figura 2 muestra la unión de un anticuerpo monoclonal anti-DLL3 a una proteína DLL3 soluble.  
 [Figura 3] La Figura 3 muestra la unión de un anticuerpo a la proteína DLL3 en una membrana celular y el recambio del anticuerpo unido a la célula.  
 [Figura 4] La Figura 4 muestra la inducción de ADCC por un anticuerpo anti-DLL3 (concentración: 2,5 µg/ml).  
 [Figura 5] La Figura 5 muestra la dependencia de la concentración de anticuerpo de una actividad de ADCC contra las células diana DLL3/BaF3 (a) y NCI-H1184 (b).  
 [Figura 6] La Figura 6 muestra la inhibición del crecimiento celular mediante la absorción de un anticuerpo anti-DLL3 y un anticuerpo secundario anti-ratón Mab-ZAP marcado con toxina.  
 [Figura 7] La Figura 7 muestra la unión de un anticuerpo recombinante anti-DLL3 a la proteína DLL3 en la superficie celular.  
 [Figura 8] La Figura 8 muestra la unión de un anticuerpo quimérico humano recombinante anti-DLL3 a una proteína DLL3 soluble y la competencia por la unión de un anticuerpo quimérico anti-DLL3 con un anticuerpo de ratón contra una proteína DLL3 soluble.  
 [Figura 9] La Figura 9 muestra la estructura esquemática de las proteínas DLL3 de longitud completa y solubles y un sitio reconocido por un anticuerpo anti-DLL3.  
 [Figura 10] La Figura 10 muestra la unión de un anticuerpo quimérico humano recombinante anti-DLL3 DL306 a la proteína DLL3 en la superficie celular.  
 [Figura 11] La Figura 11 muestra la dependencia de la concentración de anticuerpo de la actividad de ADCC de un anticuerpo quimérico humano anti-DLL3 contra las células diana DLL3/BaF3 y NCI-H1184.  
 [Figura 12] La Figura 12 muestra la dependencia de la concentración de anticuerpo de la actividad ADCC de un anticuerpo anti-DLL3 de ratón con una baja proporción de residuos de fucosa contra las células diana DLL3/BaF3 y NCI-H1184.

**35 Descripción de las realizaciones**

DLL3

La secuencia de aminoácidos de DLL3 (Delta-like 3) es conocida en la técnica. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de DLL3 humana es expuesta en la SEQ ID NO: 1 (NM\_016941), y la secuencia de aminoácidos de DLL3 de ratón es expuesta en la SEQ ID NO: 2 (NM\_007866).

La proteína DLL3 usada en la presente invención puede ser una proteína DLL3 que tiene la secuencia descrita anteriormente o puede ser una proteína modificada que tiene una secuencia derivada de la secuencia descrita anteriormente mediante la modificación de uno o más aminoácidos. Los ejemplos de la proteína modificada que tiene una secuencia derivada de la secuencia descrita anteriormente mediante la modificación de uno o más aminoácidos pueden incluir polipéptidos que tienen 70 % o más, preferiblemente 80 % o más, más preferiblemente 90 % o más, incluso más preferiblemente 95 % o más homología con la secuencia de aminoácidos. En otra alternativa, pueden usarse péptidos parciales de estas proteínas DLL3.

La proteína DLL3 usada en la presente invención no está limitada por su origen y es preferiblemente una proteína humana DLL3.

Anticuerpo anti-DLL3

El anticuerpo anti-DLL3 usado en la presente invención solo necesita unirse a la proteína DLL3 y no está particularmente limitado por su origen, tipo, forma, etc., pero tiene una actividad citotóxica. Específicamente, se puede usar un anticuerpo, tal como un anticuerpo derivado de un animal no humano (por ejemplo, un anticuerpo de ratón, rata o camello), un anticuerpo derivado de un ser humano, un anticuerpo quimérico o un anticuerpo humanizado. El anticuerpo anti-DLL3 usado en la presente invención puede ser un anticuerpo policlonal o monoclonal y es preferiblemente un anticuerpo monoclonal.

El anticuerpo anti-DLL3 usado en la presente invención es preferiblemente un anticuerpo anti-DLL3 humana. El anticuerpo anti-DLL3 humana puede ser un anticuerpo que se une específicamente a la DLL3 humana o puede ser un anticuerpo que se une a la DLL3 humana así como la DLL3 derivada de un animal no humano (por ejemplo, DLL3 de ratón).

El anticuerpo anti-DLL3 usado en la presente invención se puede obtener como un anticuerpo policlonal o monoclonal usando medios conocidos en la técnica. El anticuerpo anti-DLL3 usado en la presente invención es particularmente preferiblemente un anticuerpo monoclonal derivado de mamífero. El anticuerpo monoclonal derivado de mamífero abarca, por ejemplo, los producidos por hibridomas y los producidos por hospedadores transformados con vectores de expresión que contienen un gen de anticuerpo mediante un enfoque de ingeniería genética.

El anticuerpo anti-DLL3 de la presente invención se puede modificar con varias moléculas tales como polietilenglicol (PEG). Como se describe más adelante, el anticuerpo anti-DLL3 de la presente invención también se puede modificar con un agente quimioterapéutico, un producto químico radioactivo o similar, que tiene una actividad citotóxica.

Los ejemplos del anticuerpo usado en la presente invención, que reconoce DLL3 y se une a los mismos, pueden incluir los siguientes anticuerpos:

- (1) un anticuerpo (DL301) que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 12, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 13, y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 14, y una región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 18, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 19, y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 20;
- (2) un anticuerpo (DL306) que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 24, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 25, y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 26, y una región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 30, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 31, y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 32;
- (3) un anticuerpo (DL309) que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 36, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 37, y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 38, y una región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 42, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 43, y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 44;
- (4) un anticuerpo (DL312) que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 48, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 49 y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 50, y una región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 54, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 55, y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 56; y
- (5) un anticuerpo que se une al mismo epítipo que el de la proteína DLL3 al que se une cualquiera de los anticuerpos (1) a (4).

Los anticuerpos (1) a (5) pueden contener regiones constantes. Las regiones constantes utilizadas no están particularmente limitadas, y se puede usar cualquier región constante. Los ejemplos preferibles de las regiones constantes usadas en la presente invención pueden incluir regiones constantes derivadas de seres humanos. Por ejemplo, una región constante derivada de IgG1 humana, derivada de IgG2 humana, derivada de IgG3 humana o derivada de IgG4 humana puede usarse como una región constante de la cadena pesada. Además, por ejemplo, la región constante derivada de la cadena  $\kappa$  humana o derivada de cadena  $\lambda$  humana puede usarse como una región constante de la cadena ligera. Las regiones constantes usadas en la presente invención pueden ser regiones constantes que tienen una secuencia nativa o pueden ser regiones constantes modificadas que tienen una secuencia derivada de la secuencia nativa mediante la modificación de uno o más aminoácidos.

Los anticuerpos (1) a (5) pueden contener FR (regiones estructurales). Las FR utilizadas no están particularmente limitadas, y se puede usar cualquier FR siempre que el anticuerpo resultante mantenga su actividad de unión contra la DLL3 humana. Los ejemplos preferibles de las FR usadas en la presente invención pueden incluir FR derivadas de anticuerpos humanos. Dado que la técnica de reemplazo de FR con la actividad de unión a antígeno de un anticuerpo mantenido es conocida en la técnica, los expertos en la materia pueden seleccionar FR de manera apropiada. Las FR usadas en la presente invención pueden ser FR que tienen una secuencia nativa o pueden ser FR que tienen una secuencia derivada de la secuencia nativa mediante la modificación de uno o más aminoácidos.

Los ejemplos de la región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 12, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 13 y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos

expuesta en la SEQ ID NO: 14 pueden incluir una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 9. Además, ejemplos de la cadena pesada que comprende la región variable de la cadena pesada pueden incluir una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 10 u 11.

5 Los ejemplos de la región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 24, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 25 y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 26 pueden incluir una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 21. Además, los ejemplos de la cadena pesada que comprenden la región variable de la cadena pesada pueden incluir una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 22 o 23.

15 Los ejemplos de la región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 36, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 37 y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 38 pueden incluir una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 33. Además, los ejemplos de la cadena pesada que comprenden la región variable de la cadena pesada pueden incluir una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 34 o 35.

25 Los ejemplos de la región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 48, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 49 y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 50 pueden incluir una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 45. Además, los ejemplos de la cadena pesada que comprende la región variable de la cadena pesada pueden incluir una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 46 o 47.

30 Los ejemplos de la región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 18, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 19, y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 20 pueden incluir una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 15. Además, los ejemplos de la cadena ligera que comprende la región variable de la cadena ligera pueden incluir una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 16 o 17.

40 Los ejemplos de la región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 30, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 31, y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 32 pueden incluir una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 27. Además, los ejemplos de la cadena ligera que comprende la región variable de la cadena ligera pueden incluir una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 28 o 29.

45 Los ejemplos de la región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 42, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 43, y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 44 pueden incluir una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 39. Además, los ejemplos de la cadena ligera que comprende la región variable de la cadena ligera pueden incluir una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 40 o 41.

50 Los ejemplos de la región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 54, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 55, y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 56 pueden incluir una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 51. Además, los ejemplos de la cadena ligera que comprende la región variable de la cadena ligera pueden incluir una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 52 o 53.

60 En la presente invención, la frase "que tiene una actividad equivalente a la del anticuerpo de la presente invención" se refiere a que tiene una actividad de unión a DLL3, una actividad de internalización y/o una actividad citotóxica (actividad ADCC, etc.) contra las células que expresan DLL3 equivalente a la misma. En la presente invención, no se requiere necesariamente que la actividad equivalente sea una actividad idéntica y puede ser, por ejemplo, 50 % o más, preferiblemente 70 % o más, más preferiblemente 90 % o más de actividad comparada con la actividad de

cualquiera de los anticuerpos (1) a (12). Los ejemplos del límite superior de la actividad pueden incluir, pero no se limitan particularmente a, 1000 % o menos, 500 % o menos, 300 % o menos, 150 % o menos y 100 % o menos.

5 Un anticuerpo derivado del anticuerpo de la presente invención mediante la sustitución, delección, adición y/o  
 inserción de uno o más aminoácidos también se incorpora en el alcance de la presente invención y puede  
 prepararse artificialmente o presentarse de forma natural. Los ejemplos de un método para introducir una mutación  
 en el polipéptido incluyen mutagénesis dirigida al sitio (Hashimoto-Gotoh, T. et al. (1995) *Gene* 152, 271-275, Zoller,  
 MJ, and Smith, M. (1983) *Methods Enzymol.* 100, 468-500, Kramer, W. et al. (1984) *Nucleic Acids Res.* 12, 9441-  
 9456, Kramer W, and Fritz HJ (1987) *Methods. Enzymol.* 154, 350-367, Kunkel, TA (1985) *Proc Natl Acad Sci USA.*  
 10 82, 488-492, Kunkel (1988) *Methods Enzymol.* 85, 2763-2766). Este es uno de los métodos bien conocidos por los  
 expertos en la materia para preparar un polipéptido funcionalmente equivalente a un cierto polipéptido. Los expertos  
 en la materia pueden introducir apropiadamente una mutación en el anticuerpo de la presente invención usando  
 dicho método y de ese modo preparar un anticuerpo funcionalmente equivalente al anticuerpo. Además, las  
 mutaciones de aminoácidos pueden ocurrir en el mundo natural. Tal anticuerpo que tiene una secuencia de  
 15 aminoácidos derivada de la secuencia de aminoácidos del anticuerpo de la presente invención mediante la mutación  
 de uno o más aminoácidos y es funcionalmente equivalente al anticuerpo también está abarcado por el anticuerpo  
 de la presente invención.

20 El número de aminoácidos mutados en dicha variante generalmente es de 50 aminoácidos, preferiblemente es de 30  
 aminoácidos, más preferiblemente es de 10 aminoácidos (por ejemplo, es de 5 aminoácidos).

Para que los restos de aminoácidos se muten, se prefiere que esta mutación se realice conservativamente entre  
 aminoácidos que tengan la misma propiedad de cadena lateral. Por ejemplo, se ha establecido la siguiente  
 clasificación basada en las propiedades de las cadenas laterales de aminoácidos:

25 aminoácidos hidrófobos (A, I, L, M, F, P, W, Y y V), aminoácidos hidrófilos (R, D, N, C, E, Q, G, H, K, S y T),  
 aminoácidos que tienen una cadena lateral alifática (G, A, V, L, I y P),  
 aminoácidos que tienen una cadena lateral que contiene un grupo hidroxilo (S, T e Y)  
 aminoácidos que tienen una cadena lateral que contiene átomos de azufre (C y M),  
 30 aminoácidos que tienen una cadena lateral que contiene ácido carboxílico y amida (D, N, E y Q),  
 aminoácidos que tienen una cadena lateral que contiene una base (R, K y H), y  
 aminoácidos que tienen una cadena lateral aromática que contiene un grupo aromático (H, F, Y y W)  
 (todos los símbolos dentro de los paréntesis representan códigos de una sola letra de aminoácidos).

35 Se sabe ya que un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos modificada a partir de cierta secuencia de  
 aminoácidos mediante la delección y/o adición de uno o más restos de aminoácidos y/o la sustitución del mismo por  
 otros aminoácidos mantiene la actividad biológica del polipéptido original (Mark, D. F. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*  
 USA (1984) 81, 5662-5666, Zoller, M. J. and Smith, M., *Nucleic Acids Research* (1982) 10, 6487-6500, Wang, A. et  
 al., *Science* 224, 1431-1433, Dalbadie-McFarland, G. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1982) 79, 6409-6413).  
 40 Específicamente, cuando los aminoácidos en una secuencia de aminoácidos que constituyen un cierto polipéptido se  
 sustituyen por aminoácidos clasificados en el mismo grupo, generalmente se dice que es probable que el polipéptido  
 mantenga su actividad. En la presente invención, la sustitución entre aminoácidos dentro del mismo grupo de  
 aminoácidos descrito anteriormente se denomina sustitución conservativa.

45 La presente invención también proporciona una composición farmacéutica de la invención que comprende un  
 anticuerpo que se une al mismo epítipo al que se une cualquiera de los anticuerpos (1) a (4). Los ejemplos  
 específicos de los anticuerpos (1) a (4) pueden incluir los anticuerpos DL301, DL306, DL309 y DL312 descritos a  
 continuación en los Ejemplos. Específicamente, la presente invención también puede emplear un anticuerpo que  
 reconoce el mismo epítipo que el reconocido por cualquiera de estos anticuerpos.

50 Si un anticuerpo analito comparte o no un epítipo con un cierto anticuerpo puede confirmarse basándose en su  
 competencia por el mismo epítipo. La competencia entre los anticuerpos se detecta mediante el ensayo de bloqueo  
 cruzado o similar. El ensayo de bloqueo cruzado es preferiblemente, por ejemplo, ensayo de ELISA competitivo.

55 Específicamente, el ensayo de bloqueo cruzado implica preincubar proteínas DLL3 revestidas en los pocillos de una  
 placa de microtitulación en presencia o ausencia de un anticuerpo competidor candidato y luego añadir al mismo el  
 anticuerpo anti-DLL3 de la presente invención. La cantidad del anticuerpo anti-DLL3 de la presente invención unido  
 a la proteína DLL3 en cada pocillo se correlaciona indirectamente con la capacidad de unión del anticuerpo  
 competidor candidato (anticuerpo analito) que compite con la misma por la unión al mismo epítipo. Específicamente,  
 60 la mayor afinidad del anticuerpo analito por el mismo epítipo da como resultado una menor cantidad del anticuerpo  
 anti-DLL3 de la presente invención unido al pocillo recubierto con proteína DLL3 y, en su lugar, una mayor cantidad  
 del anticuerpo analito unido al pocillo recubierto con proteína DLL3.

65 La cantidad de cada anticuerpo unido al pocillo se puede determinar fácilmente marcando el anticuerpo por  
 adelantado. Por ejemplo, un anticuerpo biotinilado puede ensayarse usando un conjugado de avidina-peroxidasa y  
 un sustrato apropiado. El ensayo de bloqueo cruzado que usa marcaje enzimático (por ejemplo, peroxidasa) se

denomina particularmente ensayo ELISA competitivo. El anticuerpo puede marcarse con cualquiera de otros materiales de marcaje detectables o medibles. Específicamente, por ejemplo, el marcaje radioactivo o fluorescente es conocido en la técnica.

5 Además, cuando el anticuerpo analito tiene regiones constantes derivadas de una especie diferente de la del anticuerpo anti-DLL3 de la presente invención, la cantidad de cualquier anticuerpo unido al pocillo también puede medirse usando un anticuerpo marcado que reconoce cualquier región constante. Como alternativa, incluso los anticuerpos que difieren en clase, aunque derivados de la misma especie, se pueden medir para sus respectivas cantidades unidas al pozo usando anticuerpos que discriminan cada clase.

10 Siempre que el anticuerpo candidato pueda bloquear la unión del anticuerpo anti-DLL3 en al menos un 20 %, preferiblemente al menos un 30 %, más preferiblemente al menos un 50 %, incluso más preferiblemente al menos un 80 %, en comparación con la actividad de unión obtenida en la prueba de control realizada en ausencia del anticuerpo competidor, este anticuerpo candidato se determina como un anticuerpo que se une sustancialmente al mismo epítipo al que se une el anticuerpo anti-DLL3 de la presente invención o como un anticuerpo que compete con el mismo por la unión al mismo epítipo.

20 Otros ejemplos del anticuerpo empleado en una composición farmacéutica de la presente invención pueden incluir un anticuerpo que reconoce una región de los aminoácidos 27 a 175 de la DLL3 humana (SEQ ID NO: 1) y un anticuerpo que reconoce una región de los aminoácidos 216 a 492 de la DLL3 humana. Los ejemplos de otro aspecto del anticuerpo empleado en una composición farmacéutica de la presente invención pueden incluir un anticuerpo que se une a la DLL3 humana pero que no se une a un polipéptido (DLL3delta1-Fc) que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 o un polipéptido (DLL3delta2-Fc) que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7, y un anticuerpo que se une a la DLL3 humana y también se une al polipéptido (DLL3delta1-Fc) que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 y el polipéptido (DLL3delta2-Fc) que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

25 El anticuerpo empleado en una composición farmacéutica de la presente invención tiene actividades tales como una actividad ADCC y una actividad de internalización y, como tal, es útil como un fármaco farmacéutico, particularmente, un agente anticanceroso, en el que el cáncer es cáncer de pulmón. El anticuerpo tiene una actividad citotóxica.

Anticuerpo anti-DLL3 genéticamente recombinante

35 El anticuerpo a administrar a los humanos se puede convertir en un anticuerpo genéticamente recombinante que se ha diseñado artificialmente, por ejemplo, con el fin de reducir la heteroantigenicidad en humanos. El anticuerpo genéticamente recombinante abarca, por ejemplo, anticuerpos quiméricos y anticuerpos humanizados. Estos anticuerpos modificados genéticamente se pueden producir usando un método conocido en la técnica.

40 (1) Anticuerpo quimérico

Los anticuerpos quiméricos se refieren a anticuerpos que comprenden regiones variables y constantes de diferentes orígenes ligados entre sí. Por ejemplo, los anticuerpos quiméricos heterogéneos de ratón-humano son anticuerpos que comprenden las regiones variables de la cadena pesada y ligera de un anticuerpo de ratón y las regiones constantes de la cadena pesada y ligera de un anticuerpo humano. Los ADN que codifican la región variable del anticuerpo de ratón se ligan con ADN que codifican la región constante del anticuerpo humano, y los productos de ligación se pueden incorporar en vectores de expresión para preparar vectores recombinantes que expresan el anticuerpo quimérico. Las células transformadas con estos vectores (células recombinantes) se pueden cultivar para la expresión del inserto de ADN para obtener los anticuerpos quiméricos producidos durante el cultivo.

50 Las regiones constantes del anticuerpo humano se usan como las regiones constantes de los anticuerpos quiméricos. Por ejemplo, C $\gamma$ 1, C $\gamma$ 2, C $\gamma$ 3, C $\gamma$ 4, C $\mu$ , C $\delta$ , C $\alpha$ 1, C $\alpha$ 2 y C $\epsilon$  se pueden usar como regiones constantes de la cadena pesada. Además, C $\kappa$  y C $\lambda$  se pueden usar como regiones constantes de la cadena ligera. Las secuencias de aminoácidos de estas regiones constantes y las secuencias de nucleótidos que las codifican son conocidas en la técnica. Además, uno o más aminoácidos en las regiones constantes del anticuerpo humano se pueden sustituir, delecionar, añadir y/o insertar para mejorar la estabilidad del propio anticuerpo o de su producción.

(2) Anticuerpo humanizado

60 En general, los anticuerpos quiméricos comprenden regiones variables de anticuerpos derivados de animales no humanos y regiones constantes derivadas de anticuerpos humanos. Por el contrario, los anticuerpos humanizados comprenden regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de anticuerpos derivados de animales no humanos, regiones estructurales (FR) derivadas de anticuerpos humanos, y regiones constantes derivadas de anticuerpos humanos. Los anticuerpos humanizados también se llaman anticuerpos humanos reconfigurados.

65 Específicamente, por ejemplo, los anticuerpos humanizados que comprenden CDR de anticuerpos de animales no humanos (por ejemplo, ratón) injertados en anticuerpos humanos son conocidos en la técnica. Los anticuerpos

humanizados son útiles como principios activos para un agente terapéutico de la presente invención, debido a su antigenicidad reducida en el cuerpo humano.

5 Cada región variable de anticuerpo normalmente comprende 3 CDR flanqueadas por 4 FR. Las regiones CDR determinan sustancialmente la especificidad de unión del anticuerpo. Las CDR tienen diversas secuencias de aminoácidos. Por otro lado, las secuencias de aminoácidos que constituyen las FR a menudo exhiben una alta homología entre los anticuerpos que tienen diferentes especificidades de unión. Por lo tanto, en general, la especificidad de unión de un determinado anticuerpo puede trasplantarse supuestamente a otros anticuerpos mediante injerto de la CDR.

10 También se conocen enfoques generales de recombinación génica para obtener los anticuerpos humanizados. Específicamente, por ejemplo, la PCR de extensión solapada se conoce en la técnica como un método para injertar CDR de anticuerpo de ratón en FR humanas. La PCR de extensión de solapamiento emplea cebadores para la síntesis de FR de anticuerpos humanos que comprende una secuencia de nucleótidos adicional que codifica cada CDR de anticuerpo de ratón que se va a injertar. Los cebadores están preparados para cada una de los 4 FR. En el injerto de CDR de ratón en las FR humanas, en general, es supuestamente ventajoso seleccionar FR humanas altamente homólogas a las FR de ratón para mantener las funciones de la CDR. Específicamente, generalmente se prefiere usar FR humanas que comprenden secuencias de aminoácidos altamente homólogas a las de las FR adyacentes a las CDR de ratón a injertar.

15 Además, las secuencias de nucleótidos a ligar están diseñadas de manera que están conectadas en el marco. Las secuencias de nucleótidos que codifican FR humanas se sintetizan individualmente usando sus cebadores respectivos. Como resultado, se obtienen productos que comprenden el ADN codificador de CDR de ratón añadido a cada secuencia de codificación de FR. La secuencia de nucleótidos que codifica la CDR de ratón en cada producto está diseñada de tal manera que la secuencia de nucleótidos se superpone con otra. Posteriormente, las partes de la CDR superpuestas se hibridan entre sí para la reacción de síntesis de la cadena complementaria. A través de esta reacción, las secuencias de FR humana se ligan a través de las secuencias de CDR de ratón.

20 Por último, el gen de longitud completa de la región variable que comprende 3 CDR y 4 FRs ligadas se amplifica con cebadores que se hibridan respectivamente con sus extremos 5 'y 3' y comprenden una secuencia de reconocimiento adicional para una enzima de restricción apropiada. El ADN así obtenido y el ADN que codifica la región constante del anticuerpo humano pueden insertarse en vectores de expresión de manera que se fusionen en el marco para preparar vectores para la expresión del anticuerpo humanizado. Los hospedadores se transforman con estos vectores para establecer células recombinantes, que luego se cultivan para la expresión del ADN que codifica el anticuerpo humanizado para producir los anticuerpos humanizados en los cultivos de las células cultivadas (véase la Publicación de Patente Europea N.º EP 239400 y la Publicación Internacional N.º WO 96/02576).

25 Los anticuerpos humanizados así preparados pueden evaluarse para sus actividades de unión para el antígeno mediante ensayo cualitativo o cuantitativo. Como resultado, las FR de anticuerpo humano se pueden seleccionar preferiblemente de modo que permitan que las CDR formen un sitio de unión a un antígeno favorable cuando se ligan a través de las CDR. Si es necesario, los restos de aminoácidos de las FR pueden estar sustituidos de manera que las CDR del anticuerpo humanizado formen un sitio de unión al antígeno apropiado. Por ejemplo, se puede introducir una mutación en la secuencia de aminoácidos de la FR aplicando el método de PCR usado en el injerto de la CDR de ratón en las FR humanas. Específicamente, se puede introducir una mutación de una secuencia de nucleótidos parcial en los cebadores que se hibridan con la secuencia de nucleótidos de la FR. La secuencia de nucleótidos de la FR sintetizada usando tales cebadores contiene la mutación así introducida. Los anticuerpos variantes que tienen el o los aminoácidos sustituidos se pueden evaluar en cuanto a sus actividades de unión para el antígeno mediante el mismo ensayo que antes para seleccionar secuencias FR variantes que tengan la propiedad deseada (Sato, K. et al., Cancer Res, 1993, 53, 851-856).

### (3) Anticuerpo polivalente

30 El anticuerpo presente en una composición farmacéutica de la presente invención abarca no solo anticuerpos bivalentes tipificados por IgG (IgG1, IgG2, IgG4, etc.) sino también anticuerpos monovalentes o anticuerpos polivalentes tipificados por IgM siempre que estos anticuerpos se unan a la proteína DLL3. El anticuerpo polivalente que puede estar presente en una composición farmacéutica de la presente invención abarca anticuerpos polivalentes que tienen sitios de unión al antígeno, todos los cuales son iguales entre sí o algunos o todos son diferentes entre sí.

### (4) Anticuerpo de bajo peso molecular

35 El anticuerpo presente en una composición farmacéutica de la presente invención no está limitado a moléculas de anticuerpo completas y puede ser un anticuerpo de bajo peso molecular o una forma modificada del mismo siempre que el anticuerpo se una a la proteína DLL3.

El anticuerpo de bajo peso molecular abarca un fragmento de anticuerpo deficiente en una porción del anticuerpo completo (por ejemplo, IgG completa). Tal deficiencia parcial de la molécula de anticuerpo se acepta siempre que el fragmento de anticuerpo resultante sea capaz de unirse al antígeno DLL3. Se prefiere que el fragmento de anticuerpo empleado en una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención contenga una o ambas regiones variables de la cadena pesada (VH) y variables de la cadena ligera (VL). También se prefiere que el fragmento de anticuerpo empleado en una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención contenga CDR. El número de CDR contenidas en el fragmento de anticuerpo empleado en una composición farmacéutica de la presente invención no está particularmente limitado y es preferiblemente al menos 6 CDR: CDR1, CDR2 y la CDR3 de la cadena pesada y CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera.

La secuencia de aminoácidos de VH o VL puede contener sustitución, delección, adición y/o inserción. Además, el fragmento de anticuerpo que puede emplearse en una composición farmacéutica de la presente invención puede ser deficiente en una porción de uno o ambas de VH y VL siempre que el fragmento de anticuerpo resultante sea capaz de unirse al antígeno DLL3. Además, su región variable puede ser quimerizada o humanizada. Los ejemplos específicos del fragmento de anticuerpo pueden incluir Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> y Fv. Además, ejemplos específicos del anticuerpo de bajo peso molecular pueden incluir Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, scFv (Fv de cadena sencilla), diacuerpo, sc(Fv)<sub>2</sub> ((Fv)<sub>2</sub> de cadena sencilla), y scFv-Fc. En la presente invención, el anticuerpo de bajo peso molecular es preferiblemente un diacuerpo o sc(Fv)<sub>2</sub>. Estos multímeros de anticuerpos (por ejemplo, dímeros, trímeros, tetrámeros y polímeros) también están abarcados por el anticuerpo de bajo peso molecular que se puede emplear en una composición farmacéutica de la presente invención.

Dichos fragmentos del anticuerpo se pueden obtener tratando enzimáticamente el anticuerpo para formar fragmentos de anticuerpos. Las enzimas digestivas rompen el fragmento de anticuerpo en una posición particular para dar fragmentos de anticuerpo que tienen una estructura particular. Por ejemplo, la papaína, la pepsina o la plasmina se conocen en la técnica como enzimas para formar los fragmentos de anticuerpos. La digestión con papaína da F(ab)<sub>2</sub> o Fab, mientras que la digestión con pepsina da F(ab')<sub>2</sub> o Fab'. Como alternativa, se construyen genes que codifican estos fragmentos de anticuerpo, y estos genes se pueden introducir en vectores de expresión y luego se pueden expresar en células hospedadoras apropiadas (véase, p.ej., Co, M. S. et al., J. Immunol. (1994) 152, 2968-2976, Better, M. & Horwitz, A. H. Methods in Enzymology (1989) 178, 476-496, Plueckthun, A. & Skerra, A. Methods in Enzymology (1989) 178, 497-515, Lamoyi, E., Methods in Enzymology (1986) 121, 652-663, Rousseaux, J. et al., Methods in Enzymology (1986) 121, 663-669, Bird, R. E. et al., TIBTECH (1991) 9, 132-137).

El uso de un enfoque de ingeniería genética para los fragmentos de anticuerpos obtenidos enzimáticamente puede eliminar una porción arbitraria del anticuerpo. El anticuerpo de bajo peso molecular de acuerdo con la presente invención puede carecer de una región arbitraria siempre que el fragmento de anticuerpo resultante tenga afinidad de unión por DLL3.

#### i) Diacuerpo

El diacuerpo se refiere a un fragmento de anticuerpo bivalente construido mediante fusión génica (p.ej., Holliger P et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993), EP404.097 y WO 93/11161). El diacuerpo es un dímero que comprende dos cadenas polipeptídicas. Habitualmente, cada una de las cadenas polipeptídicas que constituyen el dímero comprende regiones variables de la cadena pesada y ligera unidas a través de un enlazador en la misma cadena. El enlazador en el diacuerpo es generalmente demasiado corto para permitir el emparejamiento entre regiones las variables de la cadena pesada y ligera en la misma cadena. Específicamente, el número de restos de aminoácidos que constituyen el enlazador es, por ejemplo, aproximadamente 5 restos. Por lo tanto, las regiones variables de la cadena pesada y ligera codificadas en la misma cadena polipeptídica no pueden formar juntas un fragmento de región variable monocatenario. En cambio, forman un dímero emparejando con otro fragmento de región variable de la cadena sencilla. Como resultado, el diacuerpo tiene dos sitios de unión al antígeno.

#### ii) scFv

El scFv se obtiene uniendo las regiones variables de la cadena pesada y ligera del anticuerpo. En el scFv, las regiones variables de la cadena pesada y ligera se unen a través de un enlazador, preferiblemente, un enlazador peptídico (Huston, J. S. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1988, 85, 5879-5883). Las regiones variables de la cadena pesada y ligera en el scFv pueden derivarse de cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente memoria descriptiva. El enlazador peptídico que une las regiones variables no está particularmente limitado. Por ejemplo, se puede usar un péptido arbitrario de cadena sencilla de aproximadamente 3 a 25 restos como enlazador. Específicamente, por ejemplo, se puede usar un enlazador peptídico descrito más adelante.

Las regiones variables de ambas cadenas se pueden unir, por ejemplo, mediante PCR. Primero, de las secuencias de ADN que codifican la cadena pesada o la región variable de la cadena pesada del anticuerpo y las secuencias de ADN que codifican la cadena ligera o la región variable de la cadena ligera del anticuerpo, los ADN que codifican la secuencia de aminoácidos completa o parcial deseada se usan como moldes para unir las regiones variables por PCR.

El ADN que codifica la región variable de la cadena pesada y el ADN que codifica la región variable de la cadena ligera se amplifican por separado mediante PCR usando un par de cebadores que tienen secuencias que corresponden a ambas secuencias terminales de cada ADN a amplificar. Posteriormente, se prepara el ADN que codifica la parte del enlazador peptídico. El ADN que codifica el enlazador peptídico también puede sintetizarse usando PCR. Las secuencias de nucleótidos que se pueden unir al producto de amplificación de cada región variable sintetizada por separado se añaden respectivamente a las secuencias 5' de los cebadores usados en esta PCR. Posteriormente, la reacción de PCR se realiza usando cada ADN de [ADN de la región variable de la cadena pesada] - [ADN del enlazador peptídico] - [ADN de la región variable de la cadena ligera] y cebadores para la PCR de ensamblaje.

Los cebadores para la PCR de ensamblaje comprenden la combinación de un cebador de hibridación con la secuencia 5' del [ADN de la región variable de la cadena pesada] y un cebador de hibridación con la secuencia 3' del [ADN de la región variable de la cadena ligera]. Específicamente, los cebadores para la PCR de ensamblaje son un conjunto de cebadores que es capaz de amplificar el ADN que codifica la secuencia de longitud completa del scFv a sintetizar. Por el contrario, el [ADN del enlazador peptídico] contiene una secuencia de nucleótidos adicional que se puede unir a cada ADN de la región variable. Como resultado, estos ADN se unen y, adicionalmente, se preparan finalmente en un producto de amplificación de scFv de longitud completa usando los cebadores para la PCR de ensamblaje. Una vez que se prepara el ADN que codifica scFv, se pueden obtener vectores de expresión que contienen este ADN y células transformadas con los vectores de expresión (células recombinantes) de acuerdo con un método rutinario. Además, las células recombinantes resultantes se pueden cultivar para la expresión del ADN que codifica scFv para obtener el scFv.

### iii) scFv-Fc

El scFv-Fc es un anticuerpo de bajo peso molecular que comprende una región Fc fusionada a scFv (Cellular & Molecular Immunology 2006; 3: 439-443). El origen del scFv utilizado en el scFv-Fc no está particularmente limitado, y, por ejemplo, se puede usar scFv derivado de IgM. Además, el origen del Fc no está particularmente limitado, y, por ejemplo, se puede usar Fc derivado de IgG humana (IgG1 humana, etc.). Por tanto, los ejemplos de un aspecto preferible del scFv-Fc pueden incluir scFv-Fc que comprende un fragmento scFv de anticuerpo IgM unido a CH2 (por ejemplo, Cy2) y CH3 (por ejemplo, Cy3) de IgG1 humana a través de la región bisagra (Hy) de IgG1 humana.

### iv) sc(Fv)2

El sc(Fv) 2 es un anticuerpo de bajo peso molecular que tiene una única cadena que comprende dos regiones variables de la cadena pesada (VH) y dos regiones variables de la cadena ligera (VL) unidas a través de enlazadores o similares (Hudson et al., J Immunol. Methods 1999; 231: 177-189). El sc(Fv)2 se puede preparar, por ejemplo, uniendo scFvs a través de un enlazador. En general, se necesitan tres enlazadores para unir cuatro regiones variables de anticuerpos.

Además, el sc(Fv)2 es preferiblemente un anticuerpo en el que dos VH y dos VL se alinean como VH, VL, VH y VL (es decir, [VH]-enlazador-[VL]-enlazador-[VH]-enlazador-[VL]) en este orden comenzando en el extremo N del polipéptido monocatenario.

El orden de dos VH y dos VL no está particularmente limitado a la disposición descrita anteriormente y puede ser de cualquier orden de disposición. Ejemplos del mismo también pueden incluir las siguientes disposiciones:

[VL]-enlazador-[VH]-enlazador-[VH]-enlazador-[VL]  
 [VH]-enlazador-[VL]-enlazador-[VL]-enlazador-[VH]  
 [VH]-enlazador-[VH]-enlazador-[VL]-enlazador-[VL]  
 [VL]-enlazador-[VL]-enlazador-[VH]-enlazador-[VH]  
 [VL]-enlazador-[VH]-enlazador-[VL]-enlazador-[VH]

Por ejemplo, se puede usar un enlazador peptídico arbitrario o un enlazador compuesto sintético (p. ej., enlazadores divulgados en la referencia Protein Engineering, 9 (3), 299-305, 1996) que se puede introducir mediante ingeniería genética, como el enlazador que une las regiones variables del anticuerpo. Se puede usar una pluralidad de los mismos o diferentes enlazadores. En la presente invención, el enlazador peptídico es preferible. La longitud del enlazador peptídico no está particularmente limitada y puede seleccionarse apropiadamente por los expertos en la materia de acuerdo con el propósito. El número de restos de aminoácidos que constituyen el enlazador peptídico es habitualmente de 1 a 100 aminoácidos, preferiblemente de 3 a 50 aminoácidos, más preferiblemente de 5 a 30 aminoácidos, particularmente preferiblemente de 12 a 18 aminoácidos (por ejemplo, 15 aminoácidos).

La secuencia de aminoácidos que constituye el enlazador peptídico puede ser una secuencia arbitraria siempre que esta secuencia no inhiba el efecto de unión del scFv. Por ejemplo, las siguientes secuencias de aminoácidos se pueden usar para el enlazador peptídico:

Ser

Gly · Ser  
 Gly · Gly · Ser  
 Ser · Gly · Gly  
 Gly · Gly · Gly · Ser (SEQ ID NO: 61)  
 5 Ser · Gly · Gly · Gly (SEQ ID NO: 62)  
 Gly · Gly · Gly · Gly · Ser (SEQ ID NO: 63)  
 Ser · Gly · Gly · Gly · Gly (SEQ ID NO: 64)  
 Gly · Gly · Gly · Gly · Gly · Ser (SEQ ID NO: 65)  
 Ser · Gly · Gly · Gly · Gly · Gly (SEQ ID NO: 66)  
 10 Gly · Gly · Gly · Gly · Gly · Gly · Ser (SEQ ID NO: 67)  
 Ser · Gly · Gly · Gly · Gly · Gly · Gly (SEQ ID NO: 68)  
 (Gly · Gly · Gly · Gly · Ser) n  
 (Ser · Gly · Gly · Gly · Gly) n  
 [n representa un número entero de 1 o más].

15 La secuencia de aminoácidos del enlazador peptídico puede seleccionarse apropiadamente por los expertos en la materia de acuerdo con el propósito. Por ejemplo, el número entero n que determina la longitud del enlazador peptídico es habitualmente de 1 a 5, preferiblemente de 1 a 3, más preferiblemente de 1 o 2.

20 Por consiguiente, los ejemplos de un aspecto particularmente preferible del sc(Fv)<sub>2</sub> que puede emplearse en una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención pueden incluir los siguientes sc(Fv)<sub>2</sub>:

[VH]-enlazador peptídico (15 aminoácidos)-[VL]-enlazador peptídico (15 aminoácidos)-[VH] enlazador peptídico (15 aminoácidos)-[VL].

25 Como alternativa, las regiones variables también se pueden unir utilizando el enlazador sintetizado químicamente (agente de reticulación química). Los agentes de reticulación habitualmente usados en la reticulación de compuestos peptídicos o similares se pueden usar en la presente invención. Por ejemplo, los agentes de reticulación química como se muestran a continuación son conocidos en la técnica. Estos agentes de reticulación están disponibles comercialmente:

30 N-hidroxisuccinimida (NHS),  
 suberato de disuccinimidilo (DSS),  
 35 suberato de bis(sulfosuccinimidilo) (BS3),  
 ditiobis(propionato de succinimidilo) (DSP),  
 ditiobis(propionato de sulfosuccinimidilo) (DTSSP),  
 etilenglicol bis(succinato de succinimidilo) (EGS),  
 etilenglicol bis(succinato de sulfosuccinimidilo) (sulfo-EGS),  
 tartrato de disuccinimidilo (DST), tartrato de disulfosuccinimidilo (sulfo-DST),  
 40 bis[2-(succinimidoxicarboniloxi)etil]sulfona (BSOCOES), y  
 bis[2-(sulfosuccinimidoxicarboniloxi)etil]sulfona (sulfo-BSOCOES), etc.

Actividad del anticuerpo anti-DLL3

45 (1) Actividad citotóxica

50 Para el tratamiento de enfermedades proliferativas celulares tales como el cáncer, se prefiere que el anticuerpo mantenga su actividad efectora. Específicamente, el anticuerpo preferible de acuerdo con la presente invención tiene una afinidad de unión por DLL3 y funciones efectoras. El anticuerpo empleado tiene actividad citotóxica. Las funciones efectoras del anticuerpo empleado en una composición farmacéutica de la invención pueden abarcar una actividad citotóxica celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y una actividad citotóxica dependiente del complemento (CDC). El anticuerpo terapéutico empleado en una composición farmacéutica de la invención puede poseer de manera particularmente preferible una actividad ADCC como funciones efectoras.

55 El anticuerpo usado para el propósito terapéutico es un anticuerpo que tiene una actividad citotóxica.

60 Los ejemplos de la actividad citotóxica de acuerdo con la presente invención pueden incluir actividades ADCC y CDC. En la presente invención, la actividad ADCC implica la actividad de dañar células diana a través de la unión de las células que llevan el receptor Fcγ (inmunocitos, etc.) a través de los receptores Fcγ a los dominios Fc de anticuerpos unidos específicamente a los antígenos de la superficie celular de las células diana. Por otro lado, la actividad CDC implica una actividad citotóxica mediada por el sistema del complemento.

65 Si el anticuerpo anti-DLL3 tiene o no una actividad ADCC o tiene una actividad CDC, se puede determinar mediante un método conocido en la técnica (por ejemplo, Current protocols in Immunology, Chapter 7. Immunologic studies in humans, Editor, John E. Coligan et al., John Wiley & Sons, Inc., (1993)). Específicamente, se preparan primero las células efectoras, una solución de complemento y las células diana.

i) Preparación de las células efectoras

Se extirpan los bazo de ratones CBA/N o similares, y las células del bazo se separan de los mismos en un medio RPMI1640 (fabricado por Invitrogen Corp.). Las células se pueden lavar con este medio que contiene 10 % de suero fetal bovino (FBS, fabricado por HyClone Laboratories, Inc.) y luego se ajusta a una concentración celular de  $5 \times 10^6$  células/ml para preparar células efectoras.

ii) Preparación de la solución del complemento

El complemento Baby Rabbit (fabricado por CEDARLANE Laboratories Ltd.) se puede diluir 10 veces con un medio (fabricado por Invitrogen Corp.) que contiene 10 % de FBS para preparar una solución de complemento.

iii) Preparación de las células diana

Las células que expresan las proteínas DLL3 se pueden cultivar a 37 °C durante 1 hora, junto con  $^{51}\text{Cr}$ -cromato sódico 0,2 mCi (fabricado por GE Healthcare Bio-Sciences Corp.), en un medio DMEM que contiene 10 % de FBS para marcar radiativamente las células diana. Las células transformadas con genes que codifican la proteína DLL3, las líneas celulares de cáncer de pulmón microcítico o similares se pueden usar como las células que expresan las proteínas DLL3. Las células así marcadas radiativamente pueden lavarse tres veces con un medio RPMI1640 que contiene 10 % de SFB y ajustarse a una concentración celular de  $2 \times 10^5$  células/ml para preparar las células diana.

La actividad ADCC o CDC puede analizarse mediante el método descrito a continuación. Para el ensayo de actividad ADCC, las células diana y el anticuerpo anti-DLL3 (50 µl cada uno) se añaden a una placa de 96 pocillos con fondo en U (fabricada por Becton, Dickinson and Company) y se hacen reaccionar durante 15 minutos en hielo. A continuación, se añaden 100 µl de las células efectoras a la placa, y las células se cultivan durante 4 horas en una incubadora de CO<sub>2</sub>. La concentración final del anticuerpo se establece en 0 o 10 µg/ml. Después del cultivo, se recogen 100 µl del sobrenadante y se mide la radioactividad usando un contador gamma (COBRA II AUTO-GAMMA, MODELO D5005, fabricado por Packard Instrument Company). La actividad citotóxica (%) puede calcularse basándose en la fórmula de cálculo  $(A - C)/(B - C) \times 100$  usando el valor obtenido. En la fórmula, A representa la radioactividad (cpm) de cada muestra; B representa la radioactividad (cpm) de una muestra complementada con NP-40 al 1 % (fabricado por Nacalai Tesque, Inc.); y C representa la radioactividad (cpm) de una muestra que contiene solo las células diana.

Por otro lado, para el ensayo de actividad de CDC, las células diana y el anticuerpo anti-DLL3 (50 µl cada uno) se añaden a una placa de 96 pocillos de fondo plano (fabricada por Becton, Dickinson and Company) y reaccionan durante 15 minutos sobre hielo. A continuación, se añaden 100 µl de la solución del complemento a la placa, y las células se cultivan durante 4 horas en una incubadora de CO<sub>2</sub>. La concentración final del anticuerpo se establece en 0 o 3 µg/ml. Después del cultivo, se recogen 100 µl del sobrenadante y se mide la radioactividad usando un contador gamma. La actividad citotóxica se puede calcular de la misma manera que en el ensayo de actividad ADCC.

Por el contrario, en el ensayo de actividad citotóxica utilizando conjugados de anticuerpos, las células diana y los conjugados de anticuerpo anti-DLL3 (50 µl cada uno) se añaden a una placa de 96 pocillos de fondo plano (fabricada por Becton, Dickinson and Company) y reaccionan durante 15 minutos en hielo. Las células se cultivan durante 1 a 4 horas en una incubadora de CO<sub>2</sub>. La concentración final del anticuerpo se establece en 0 o 3 µg/ml. Después del cultivo, se recogen 100 µl del sobrenadante y se mide la radioactividad usando un contador gamma. La actividad citotóxica se puede calcular de la misma manera que en el ensayo de actividad ADCC.

(2) Anticuerpo conjugado

El anticuerpo puede conjugarse con una sustancia citotóxica tal como un agente quimioterapéutico, un péptido tóxico o un producto químico radiactivo. Dicho anticuerpo modificado (en lo sucesivo, denominado conjugado de anticuerpo) se puede obtener modificando químicamente el anticuerpo obtenido. Un método para la modificación del anticuerpo ya está establecido en la técnica.

Los ejemplos del agente quimioterapéutico cuya actividad citotóxica funciona a través de la conjugación con el anticuerpo anti-DLL3 pueden incluir los siguientes agentes quimioterapéuticos: azaribina, anastrozol, azacitidina, bleomicina, bortezomib, briostatina-1, busulfán, camptotecina, 10-hidroxicamptotecina, carmustina, celebrex, clorambucilo, cisplatino, irinotecán, carboplatino, cladribina, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, docetaxel, dactinomicina, daunomicina glucurónido, daunorrubicina, dexametasona, dietilestilbestrol, doxorubicina, glucurónido de doxorubicina, epirubicina, etinilestradiol, estramustina, etopósido, glucurónido etopósido, floxuridina, fludarabina, flutamida, fluorouracilo, fluoximesterona, gemcitabina, caproato de hidroxiprogesterona, hidroxiiurea, idarrubicina, ifosfamida, leucovorina, lomustina, mecloretamina, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalán, mercaptopurina, metotrexato, mitoxantrona, mitramicina, mitomicina, mitotano, fenilbutirato, prednisona, procarbazona, paclitaxel, pentostatina, semustina, estreptozocina, tamoxifeno, taxanos, taxol, propionato de testosterona, talidomida, tioguanina, tiotepa, tenipósido, topotecán, mostaza de uracilo, vinblastina, vinorelbina, vincristina.

El agente quimioterapéutico es preferiblemente un agente quimioterapéutico de bajo peso molecular. Es poco probable que el agente quimioterapéutico de bajo peso molecular interfiera con las funciones del anticuerpo incluso después de su conjugación con el anticuerpo. En la presente invención, el agente quimioterapéutico de bajo peso molecular habitualmente tiene un peso molecular de 100 a 2000, preferiblemente de 200 a 1000. Todos los agentes quimioterapéuticos ilustrados anteriormente son agentes quimioterapéuticos de bajo peso molecular. Estos agentes quimioterapéuticos de acuerdo con la presente invención abarcan profármacos que se convierten *in vivo* en agentes quimioterapéuticos activos. La activación del profármaco puede ser por conversión enzimática o conversión no enzimática.

Además, el anticuerpo puede modificarse con el péptido tóxico. Los ejemplos del péptido tóxico pueden incluir los siguientes: cadena de la toxina A de la difteria (Langone J. J., et al., *Methods in Enzymology*, 93, 307-308, 1983), exotoxina de *Pseudomonas* (Nature Medicine, 2, 350-353, 1996), cadena A de la ricina (Fulton R. J., et al., *J. Biol. Chem.*, 261, 5314-5319, 1986; Sivam G., et al., *Cancer Res.*, 47, 3169-3173, 1987; Cumber A. J. et al., *J. Immunol. Methods*, 135, 15-24, 1990; Wawrzynczak E. J., et al., *Cancer Res.*, 50, 7519-7562, 1990; Gheeite V., et al., *J. Immunol. Methods*, 142, 223-230, 1991); cadena A de la ricina deglicosilada (Thorpe P. E., et al., *Cancer Res.*, 47, 5924-5931, 1987); cadena A de la abrina (Wawrzynczak E. J., et al., *Br. J. Cancer*, 66, 361-366, 1992; Wawrzynczak E. J., et al., *Cancer Res.*, 50, 7519-7562, 1990; Sivam G., et al., *Cancer Res.*, 47, 3169-3173, 1987; Thorpe P. E., et al., *Cancer Res.*, 47, 5924-5931, 1987); gelonina (Sivam G., et al., *Cancer Res.*, 47, 3169-3173, 1987; Cumber A. J. et al., *J. Immunol. Methods*, 135, 15-24, 1990; Wawrzynczak E. J., et al., *Cancer Res.*, 50, 7519-7562, 1990; Bolognesi A., et al., *Clin. exp. Immunol.*, 89, 341-346, 1992); PAP-s; proteína antiviral de semillas de fitolaca (Bolognesi A., et al., *Clin. exp. Immunol.*, 89, 341-346, 1992); briodina (Bolognesi A., et al., *Clin. exp. Immunol.*, 89, 341-346, 1992); saporina (Bolognesi A., et al., *Clin. exp. Immunol.*, 89, 341-346, 1992); momordina (Cumber A. J., et al., *J. Immunol. Methods*, 135, 15-24, 1990; Wawrzynczak E. J., et al., *Cancer Res.*, 50, 7519-7562, 1990; Bolognesi A., et al., *Clin. exp. Immunol.*, 89, 341-346, 1992); momorcochina (Bolognesi A., et al., *Clin. exp. Immunol.*, 89, 341-346, 1992); diantina 32 (Bolognesi A., et al., *Clin. exp. Immunol.*, 89, 341-346, 1992); diantina 30 (Stirpe F., Barbieri L., *FEBS letter* 195, 1-8, 1986); modicina (Stirpe F., Barbieri L., *FEBS letter* 195, 1-8, 1986); viscumina (Stirpe F., Barbieri L., *FEBS letter* 195, 1-8, 1986); volkesina (Stirpe F., Barbieri L., *FEBS letter* 195, 1-8, 1986); dodecandrina (Stirpe F., Barbieri L., *FEBS letter* 195, 1-8, 1986); tritina (Stirpe F., Barbieri L., *FEBS letter* 195, 1-8, 1986); luffina (Stirpe F., Barbieri L., *FEBS letter* 195, 1-8, 1986); trichokirina (Casellas P., et al., *Eur. J. Biochem.* 176, 581-588, 1988; Bolognesi A., et al., *Clin. exp. Immunol.*, 89, 341-346, 1992).

En la presente invención, el producto químico radiactivo se refiere a un producto químico que contiene un radioisótopo. El radioisótopo no está particularmente limitado, y se puede usar cualquier radioisótopo. Por ejemplo, se pueden usar  $^{32}\text{P}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{186}\text{Re}$  o  $^{188}\text{Re}$ .

En otro aspecto, se pueden usar uno o dos o más agentes quimioterapéuticos de bajo peso molecular y uno o dos o más péptidos tóxicos en combinación en la modificación del anticuerpo. El anticuerpo anti-DLL3 puede conjugarse con el agente quimioterapéutico de bajo peso molecular a través de un enlace covalente o no covalente. Un método para preparar dicho anticuerpo conjugado con agente quimioterapéutico es conocido en la técnica.

Un agente proteínico o toxina se puede conjugar con el anticuerpo mediante un enfoque de ingeniería genética. Específicamente, por ejemplo, el ADN que codifica el péptido tóxico y el ADN que codifica el anticuerpo anti-DLL3 se fusionan en el marco entre sí, y este ADN fusionado se puede incorporar en vectores de expresión para construir vectores recombinantes. Los vectores se introducen en células hospedadoras apropiadas, y las células transformadas resultantes se cultivan. Las células pueden expresar el inserto de ADN para obtener anticuerpos anti-DLL3 conjugados con péptidos tóxicos como proteínas de fusión. Para obtener proteínas de fusión con anticuerpos, el agente proteínico o toxina generalmente se localiza en el lado C-terminal del anticuerpo. Se puede permitir que un enlazador peptídico intervenga entre el anticuerpo y el agente proteínico o toxina.

### (3) Anticuerpo biespecífico

Además, el anticuerpo presente en una composición farmacéutica de la presente invención puede ser un anticuerpo biespecífico. El anticuerpo biespecífico se refiere a un anticuerpo que tiene, en la misma molécula de anticuerpo, regiones variables que reconocen diferentes epítopos. En la presente invención, el anticuerpo biespecífico puede tener sitios de unión al antígeno que reconocen diferentes epítopos en la molécula de DLL3. Por lo tanto, dos de tales moléculas de anticuerpo biespecíficas pueden unirse a una molécula de DLL3. Como resultado, se puede esperar un efecto citotóxico más fuerte.

Como alternativa, el anticuerpo biespecífico presente en una composición farmacéutica de la presente invención puede tener sitios de unión al antígeno, uno de los cuales reconoce DLL3 y el otro reconoce una sustancia citotóxica. La sustancia citotóxica abarca específicamente, por ejemplo, un agente quimioterapéutico, un péptido tóxico y un producto químico radiactivo. Tal anticuerpo biespecífico se une a las células que expresan DLL3, mientras que captura la sustancia citotóxica. Como resultado, se puede permitir que la sustancia citotóxica actúe directamente sobre las células que expresan DLL3. Específicamente, el anticuerpo biespecífico que reconoce la sustancia citotóxica puede dañar específicamente las células tumorales e inhibir el crecimiento de las células tumorales.

Además, en la presente invención, se puede usar un anticuerpo biespecífico que comprende un sitio de unión a DLL3 combinado con un sitio de unión al antígeno que reconoce un antígeno distinto de DLL3. El sitio de unión a antígeno que puede combinarse con un anticuerpo biespecífico de este tipo reconoce, por ejemplo, un antígeno que se expresa específicamente en la superficie de las células cancerosas diana, como con DLL3, pero es diferente de DLL3.

Un método para producir el anticuerpo biespecífico es conocido en la técnica. Por ejemplo, dos anticuerpos que difieren en el antígeno reconocido de ese modo pueden unirse para preparar el anticuerpo biespecífico. Cada uno de los anticuerpos unidos puede ser 1/2 molécula que tiene cadenas pesadas y ligeras o puede ser una 1/4 de molécula que consiste en cadenas pesadas. Como alternativa, se pueden fusionar diferentes hibridomas productores de anticuerpos monoclonales para preparar células de fusión que producen anticuerpos biespecíficos. Además, el anticuerpo biespecífico se puede preparar mediante un enfoque de ingeniería genética.

La actividad de unión al antígeno del anticuerpo se puede determinar usando medios conocidos en la técnica (Antibodies A Laboratory Manual. Ed Harlow, David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988). Por ejemplo, puede usarse ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), EIA (inmunoensayo enzimático), RIA (radioinmunoensayo) o fluoroinmunoensayo.

#### (4) Modificación de la cadena de azúcar

El anticuerpo empleado en una composición farmacéutica de la presente invención puede ser un anticuerpo que tiene una cadena de azúcar modificada. Se sabe que las actividades citotóxicas de los anticuerpos se pueden potenciar modificando sus cadenas de azúcar. Por ejemplo, en la técnica se conocen anticuerpos glicosilados (WO 99/54342, etc.), anticuerpos deficientes en fucosa añadidos a sus cadenas de azúcar (WO 00/61739, WO 02/31140, etc.) y anticuerpos que tienen una cadena de azúcar que tiene GlcNAc biseicante (WO 02/79255, etc.) como el anticuerpo que tiene una cadena de azúcar modificada.

#### (5) Actividad de internalización

Además, el anticuerpo presente en una composición farmacéutica de la presente invención puede tener una actividad de internalización. En la presente invención, el "anticuerpo que tiene una actividad de internalización" significa un anticuerpo que se transporta a las células (citoplasmas, vesículas, otros orgánulos, etc.) a través de su unión a DLL3.

Si el anticuerpo tiene o no una actividad de internalización puede confirmarse mediante un método generalmente conocido por los expertos en la materia y puede confirmarse mediante, por ejemplo, un método que implica poner en contacto anticuerpos anti-DLL3 unidos al material de marcaje con células que expresan DLL3 y confirmar si el material de marcaje está incorporado o no en las células, o un método que implica poner en contacto anticuerpos anti-DLL3 conjugados con sustancia citotóxica con células que expresan DLL3 y confirmar si se induce o no la muerte de las células que expresan DLL3.

Más específicamente, la actividad de internalización del anticuerpo anti-DLL3 puede analizarse mediante, por ejemplo, un método descrito en los Ejemplos.

El anticuerpo que tiene una actividad de internalización puede conjugarse, por ejemplo, con la sustancia citotóxica y usarse como una composición farmacéutica tal como un agente anticanceroso descrito más adelante.

#### Preparación de anticuerpo anti-DLL3

##### 1. Preparación de anticuerpo anti-DLL3 usando hibridoma productor de anticuerpos monoclonales

Los hibridomas productores de anticuerpos monoclonales se pueden preparar de acuerdo con una técnica conocida en la técnica de la siguiente manera: primero, los animales se inmunizan con proteínas DLL3 o péptidos parciales de los mismos (que se describirán más adelante) usados como antígenos sensibilizantes de acuerdo con un método de inmunización habitual. Los inmunocitos obtenidos se fusionan con células parentales conocidas en la técnica mediante un método de fusión celular habitual para obtener hibridomas. Estos hibridomas se rastrean adicionalmente para detectar células que producen el anticuerpo de interés mediante un método de selección habitual para seleccionar hibridomas que producen el anticuerpo anti-DLL3. El anticuerpo monoclonal anti-DLL3 deseado se obtiene a partir de los hibridomas seleccionados. Específicamente, el anticuerpo monoclonal anti-DLL3 se prepara de la siguiente manera:

##### (1) Preparación de la proteína DLL3

Primero, los genes DLL3 pueden expresarse para obtener proteínas DLL3 usadas como antígenos sensibilizantes para la obtención de anticuerpos. Específicamente, la secuencia del gen que codifica la DLL3 se inserta en vectores de expresión conocidos en la técnica, con los que luego se transforman las células hospedadoras apropiadas. A

continuación, las proteínas humanas DLL3 de interés se purifican a partir de las células hospedadoras o un sobrenadante de cultivo de las mismas mediante un método conocido en la técnica. Las proteínas DLL3 naturales purificadas o las proteínas de fusión que comprenden el polipéptido parcial deseado de la proteína DLL3 fusionada con un polipéptido diferente pueden usarse como inmunógenos. Por ejemplo, los fragmentos Fc de anticuerpo, etiquetas peptídicas, etc. se pueden usar para producir las proteínas de fusión usadas como inmunógenos. Los vectores de expresión para las proteínas de fusión se pueden preparar fusionando, en el marco, dos o más genes que codifican respectivamente los fragmentos polipeptídicos deseados e insertando este gen de fusión en vectores de expresión. El método para preparar las proteínas de fusión se describe en Molecular Cloning 2nd ed. (Sambrook, J. et al., Molecular Cloning 2nd ed., 9.47-9.58, Cold Spring Harbor Lab. Prensa, 1989).

Las proteínas DLL3 así purificadas se pueden usar como antígenos sensibilizantes para la inmunización de mamíferos. Los péptidos parciales de DLL3 también pueden usarse como antígenos sensibilizantes. Por ejemplo, los siguientes péptidos se pueden usar como antígenos sensibilizantes:

La región y el tamaño del péptido parcial de DLL3 utilizado no están limitados. El número de aminoácidos que constituyen el péptido que sirve como antígeno sensibilizante es preferiblemente al menos 3 o más, por ejemplo, 5 o más o 6 o más. Más específicamente, se pueden usar péptidos de 8 a 50 restos, preferiblemente de 10 a 30 restos como antígenos sensibilizantes.

#### (2) Inmunización con proteína DLL3

Los mamíferos se inmunizan con las proteínas DLL3 o sus péptidos parciales como antígenos sensibilizantes. Los mamíferos inmunizados no están particularmente limitados. Para obtener el anticuerpo monoclonal por el método de fusión celular, se prefiere que los animales inmunizados se seleccionen teniendo en cuenta la compatibilidad con las células parentales utilizadas en la fusión celular. En general, los roedores son preferibles como los animales inmunizados. Específicamente, se pueden usar ratones, ratas, hámsters o conejos como animales inmunizados. Además, se pueden usar monos o similares como animales inmunizados.

Estos animales pueden inmunizarse con los antígenos sensibilizantes de acuerdo con un método conocido en la técnica. Por ejemplo, un método general puede implicar la inmunización de los mamíferos con los antígenos sensibilizantes mediante inyección intraperitoneal o subcutánea. Específicamente, los antígenos sensibilizantes se administran a los mamíferos varias veces a intervalos de 4 a 21 días. Los antígenos sensibilizantes se diluyen con PBS (solución salina tamponada con fosfato), solución salina o similares en una relación de dilución apropiada y se usan en la inmunización. Además, los antígenos sensibilizantes se pueden administrar junto con un adyuvante. Por ejemplo, los antígenos se pueden mezclar con un adyuvante completo de Freund para la emulsificación para preparar antígenos sensibilizantes. Además, se puede usar un vehículo apropiado en la inmunización con los antígenos sensibilizantes. Particularmente, cuando se usan péptidos parciales que tienen un peso molecular pequeño como antígenos sensibilizantes, se prefiere que los péptidos antigénicos sensibilizantes se unan a proteínas vehículo tales como la albúmina o la hemocianina de la lapa californiana y se usen en la inmunización.

#### (3) Inmunización con ADN

El anticuerpo monoclonal también se puede obtener mediante inmunización con ADN. La inmunización con ADN es un método de inmunoestimulación que implica: inmunizar animales mediante la administración de ADN vector que se ha construido en una forma capaz de expresar genes que codifican proteína antigénica en los animales inmunizados; y permitir que los animales inmunizados expresen los antígenos inmunizantes *in vivo*. Se puede esperar que la inmunización con ADN sea superior a los métodos generales de inmunización usando la administración de antígenos proteicos de la siguiente manera:

- pueda proporcionar inmunoestimulación con estructuras de proteínas de membrana (por ejemplo, DLL3) mantenidas; y
- elimine la necesidad de purificar antígenos inmunizantes.

Para obtener el anticuerpo monoclonal que se usará en la presente invención mediante la inmunización con ADN, primero, los animales se inmunizan mediante la administración del ADN del vector de expresión de la proteína DLL3. El ADN que codifica DLL3 se puede sintetizar mediante un método conocido en la técnica tal como PCR. El ADN obtenido se inserta en vectores de expresión apropiados, con los cuales los animales se inmunizan mediante administración. Por ejemplo, los vectores de expresión comercializados, tales como pcDNA3.1, pueden usarse como los vectores de expresión. Del mismo modo, un método generalmente usado puede usarse para administrar los vectores a los animales. Por ejemplo, partículas de oro con los vectores de expresión adsorbidos se pueden insertar en las células usando una pistola de genes para realizar la inmunización de ADN.

#### (4) Preparación del hibridoma

Se confirma un aumento en la cantidad del anticuerpo deseado en el suero de los mamíferos así inmunizados. Seguidamente, los inmunocitos se recogen de los mamíferos y se someten a fusión celular. Particularmente, las

células del bazo se pueden usar como inmunocitos preferidos.

Las células de mieloma de mamífero se usan en la fusión celular con los inmunocitos. Se prefiere que las células de mieloma tengan un marcador de selección apropiado para el cribado. El marcador de selección se refiere a un carácter que puede sobrevivir (o no puede sobrevivir) en condiciones de cultivo particulares. Por ejemplo, la deficiencia de hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (en lo sucesivo, abreviado como deficiencia de HGPRT) o deficiencia de timidina quinasa (en lo sucesivo, abreviado como deficiencia de TK) es conocida en la técnica como el marcador de selección. Las células que tienen la deficiencia de HGPRT o TK son sensibles a la hipoxantina-aminopterin-timidina (en lo sucesivo, abreviado como sensible a HAT). Las células sensibles a HAT se destruyen en un medio selectivo de HAT porque no pueden sintetizar ADN. Por el contrario, estas células, cuando se fusionan con células normales, pueden crecer incluso en el medio selectivo HAT porque pueden continuar la síntesis de ADN mediante el uso de la ruta silvestre de las células normales.

Las células que tienen la deficiencia de HGPRT o TK se pueden seleccionar en un medio que contenga 6-tioguanina u 8-azaguanina (en lo sucesivo, abreviado como 8AG) para la deficiencia de HGPRT o 5'-bromodesoxiuridina para la deficiencia de TK. Las células normales se destruyen en dicho medio porque incorporan estos análogos de pirimidina en sus ADN. Por el contrario, las células deficientes en estas enzimas pueden sobrevivir en el medio selectivo porque no pueden incorporar los análogos de pirimidina en sí mismas. Además, un marcador de selección denominado resistencia a G418 imparte a las células resistencia al antibiótico 2-desoxiestreptamina (análogo de gentamicina) a través de un gen de resistencia a la neomicina. En la técnica se conocen diversas células de mieloma adecuadas para la fusión celular. Por ejemplo, las siguientes células de mieloma se pueden usar en la producción del anticuerpo monoclonal para uso en composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención:

P3 (P3x63Ag8. 653) (J. Immunol. (1979) 123, 1548-1550),  
 P3x63Ag8U. 1 (Current Topics in Microbiology and Immunology (1978) 81, 1-7),  
 NS-1 (Kohler. G. and Milstein, C. Eur. J. Immunol. (1976) 6, 511-519),  
 MPC-11 (Margulies. D. H. et al., Cell (1976) 8, 405-415),  
 SP2/0 (Shulman, M. et al., Nature (1978) 276, 269-270),  
 FO (de St. Groth, S. F. et al., J. Immunol. Methods (1980) 35, 1-21),  
 S194 (Trowbridge, I. S. J. Exp. Med. (1978) 148, 313-323),  
 R210 (Galfre, G. et al., Nature (1979) 277, 131-133) o similares.

Básicamente, la fusión celular de los inmunocitos con las células de mieloma se realiza de acuerdo con un método conocido en la técnica, por ejemplo, el método de Kohler y Milstein et al. (Kohler. G. y Milstein, C., Methods Enzymol. (1981) 73, 3-46).

Más específicamente, la fusión celular puede realizarse, por ejemplo, en un medio de cultivo nutriente habitual en presencia de un promotor de fusión celular. Por ejemplo, se puede usar polietilenglicol (PEG) o el virus hemaglutinante de Japón (HVJ) como el promotor de fusión. Además, se puede añadir un auxiliar, tal como dimetilsulfóxido, si se desea, para mejorar la eficacia de la fusión.

La relación entre los inmunocitos y las células de mieloma utilizadas puede establecerse arbitrariamente. Por ejemplo, se prefiere que la cantidad de inmunocitos se establezca de 1 a 10 veces mayor que la de las células de mieloma. Por ejemplo, un medio de cultivo RPMI1640 o MEM adecuado para el crecimiento de la línea celular de mieloma así como un medio de cultivo habitual usado en este tipo de cultivo celular se puede usar como el medio de cultivo en la fusión celular. Además, una solución suplementada con suero (por ejemplo, suero de ternera fetal (FCS)) se puede agregar al medio de cultivo.

Para la fusión celular, los inmunocitos y las células de mieloma se mezclan bien en las cantidades predeterminadas en el medio de cultivo y luego se mezclan con una solución de PEG precalentada a aproximadamente 37 °C para formar las células de fusión (hibridomas) de interés. En el método de fusión celular, por ejemplo, generalmente se puede añadir PEG con un peso molecular promedio del orden de 1000 a 6000 a una concentración de 30 a 60 % (p/v). Posteriormente, el medio de cultivo apropiado ejemplificado anteriormente se añade secuencialmente a los hibridomas, y la mezcla se centrifuga, seguido de la eliminación del sobrenadante. Este procedimiento se repite para eliminar los agentes de fusión celular o similares desfavorables para el crecimiento del hibridoma.

Los hibridomas así obtenidos pueden seleccionarse mediante el uso de un medio de cultivo selectivo apropiado para el marcador de selección de las células de mieloma utilizadas en la fusión celular. Por ejemplo, las células que tienen la deficiencia de HGPRT o TK pueden seleccionarse cultivando los hibridomas en un medio de cultivo HAT (medio de cultivo que contiene hipoxantina, aminopterin y timidina). Específicamente, cuando se usan células de mieloma sensibles a HAT en la fusión celular, solo las células fusionadas con éxito con células normales pueden cultivarse selectivamente en el medio de cultivo HAT. El cultivo que utiliza el medio de cultivo HAT se continúa durante un tiempo lo suficientemente largo como para destruir células (células no fusionadas) distintas de los hibridomas de interés. Específicamente, el cultivo generalmente puede realizarse durante unos pocos días a unas pocas semanas para seleccionar los hibridomas de interés. Posteriormente, los hibridomas que producen el

anticuerpo de interés pueden cribarse y clonarse como clones individuales mediante un método de dilución limitante habitual.

5 El cribado del anticuerpo de interés y la clonación como clones individuales del mismo se puede realizar preferiblemente mediante un método de cribado basado en la reacción antígeno-anticuerpo conocida en la técnica. Por ejemplo, los antígenos se unen a un vehículo tal como perlas hechas de poliestireno o similar o una placa de microtitulación de 96 pocillos comercializada y se hace reaccionar con el sobrenadante de cultivo de los hibridomas. Posteriormente, el vehículo se lava y luego se hace reaccionar con anticuerpos secundarios marcados con enzimas o similares. Cuando el sobrenadante del cultivo contiene el anticuerpo de interés reactivo con los antígenos sensibilizantes, los anticuerpos secundarios se unen al vehículo a través de este anticuerpo. Finalmente, los anticuerpos secundarios unidos al vehículo pueden detectarse para determinar la presencia del anticuerpo de interés en el sobrenadante del cultivo. Los hibridomas que producen el anticuerpo deseado capaz de unirse al antígeno se pueden clonar mediante un método de dilución limitante o similar. En esta selección, las proteínas DLL3 usadas en la inmunización o las proteínas DLL3 sustancialmente idénticas a las mismas se pueden usar preferiblemente como 15 los antígenos. Por ejemplo, las líneas celulares que expresan DLL3, DLL3 soluble, o similares se pueden usar como los antígenos.

Un método descrito en la Publicación Internacional N.º WO 03/104453 puede usarse en la producción del anticuerpo contra la DLL3 humana.

20 Asimismo, además del método para obtener los hibridomas inmunizando animales no humanos con los antígenos, los linfocitos humanos pueden sensibilizarse con los antígenos para obtener el anticuerpo de interés. Específicamente, los linfocitos humanos se sensibilizan primero con las proteínas DLL3 *in vitro*. Posteriormente, los linfocitos sensibilizados se fusionan con las parejas de fusión apropiadas. Por ejemplo, las células de mieloma derivadas de humanos capaces de dividirse a lo largo de sus vidas pueden usarse como parejas de fusión (véase la Publicación de Patente Japonesa N.º 1-59878).

Además, el anticuerpo humano anti-DLL3 también se puede obtener administrando las proteínas DLL3 como antígenos a animales transgénicos que tienen todos los repertorios de genes de anticuerpos humanos o 30 inmunizando los animales con ADN que se ha construido para expresar DLL3 en los animales. Las células productoras de anticuerpos de los animales inmunizados se pueden inmortalizar mediante tratamiento tal como fusión celular con parejas de fusión apropiadas o infección con el virus de Epstein-Barr. A partir de las células inmortalizadas así obtenidas, pueden aislarse anticuerpos humanos contra la proteína DLL3 (véanse las publicaciones internacionales números WO 94/25585, WO 93/12227, WO 92/03918 y WO 94/02602). Además, las células inmortalizadas también se pueden clonar como células que producen anticuerpos que tienen la especificidad de reacción de interés. Cuando se utilizan animales transgénicos como animales inmunizados, los sistemas inmunitarios de los animales reconocen la DLL3 humana como extraña. Por lo tanto, los anticuerpos humanos contra la DLL3 humana se pueden obtener fácilmente.

#### 40 (5) Obtención del anticuerpo monoclonal a partir del hibridoma

Los hibridomas productores de anticuerpos monoclonales así preparados pueden subcultivarse en un medio de cultivo habitual. Además, los hibridomas también se pueden almacenar durante un largo período en nitrógeno líquido.

45 Los hibridomas se cultivan según un método habitual, y el anticuerpo monoclonal de interés se puede obtener a partir del sobrenadante de cultivo del mismo. Como alternativa, los hibridomas se administran a mamíferos compatibles con los mismos y se multiplican, y el anticuerpo monoclonal también se puede obtener en forma de fluidos ascíticos. El primer método es adecuado para obtener anticuerpos altamente puros.

### 50 2. Preparación de anticuerpos anti-DLL3 mediante un enfoque de ingeniería genética

#### (1) Clonación del gen del anticuerpo

55 El anticuerpo puede prepararse mediante un enfoque de ingeniería genética usando genes de anticuerpos clonados a partir de células productoras de anticuerpos. Los genes de anticuerpos clonados pueden incorporarse en vectores apropiados y expresarse como anticuerpos mediante la transformación de hospedadores. Los métodos para el aislamiento del gen del anticuerpo, la introducción en vectores, y la transformación de células hospedadoras ya se han establecido (véase p.ej., Vandamme, A. M. et al., Eur. J. Biochem. (1990) 192, 767-775).

60 Por ejemplo, los ADNc que codifican las regiones variables del anticuerpo anti-DLL3 se pueden obtener a partir de las células de hibridoma que producen anticuerpos anti-DLL3. Con este fin, generalmente, se extraen primero los ARN totales de los hibridomas. Por ejemplo, se pueden usar los siguientes métodos para la extracción del ARNm de las células:

- 65 – método de ultracentrifugación con guanidina (Chirgwin, J. M. et al., Biochemistry (1979) 18, 5294 - 5299), y

– método AGPC (Chomczynski, P. et al., Anal. Biochem. (1987) 162, 156-159).

Los ARNm extraídos pueden purificarse usando el kit de purificación de ARNm (fabricado por GE Healthcare BioSciences Corp.) o similares. Como alternativa, también está comercializado un kit para extraer directamente los ARNm totales de las células, tal como el kit de purificación de ARNm QuickPrep (fabricado por GE Healthcare BioSciences Corp.). Los ARNm totales se pueden obtener a partir de los hibridomas usando dicho kit. A partir de los ARNm obtenidos, los ADNc que codifican la región variable del anticuerpo pueden sintetizarse usando transcriptasa inversa. En este procedimiento, se pueden usar secuencias arbitrarias de 15 a 30 bases seleccionadas de secuencias comunes con los genes del anticuerpo como cebadores. Los ADNc pueden sintetizarse usando el kit AMV Reverse Transcriptase First-strand cDNA Synthesis (fabricado por Seikagaku Corp.) o similares. Además, el kit 5'-Ampli FINDER RACE (fabricado por Clontech Laboratories, Inc.) y 5'-RACE PCR (Frohman, M. A. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1988) 85, 8998-9002; y Belyavsky, A. et al., Nucleic Acids Res. (1989) 17, 2919-2932) puede usarse para la síntesis y amplificación del ADNc. Además, los sitios de enzimas de restricción apropiados descritos más adelante pueden introducirse en ambos extremos de los ADNc en el curso de dicha síntesis de ADNc.

A partir de los productos de PCR obtenidos, los fragmentos de ADNc de interés se purifican y posteriormente se ligan con los ADN del vector. Los vectores recombinantes así preparados se introducen en *E. coli* o similares. Después de la selección de la colonia, los vectores recombinantes deseados pueden prepararse a partir de *E. coli* que ha formado la colonia. A continuación, el ADNc se puede secuenciar mediante un método conocido en la técnica, por ejemplo, un método de terminación de la cadena de didesoxinucleótido.

Además, las bibliotecas de ADNc se pueden usar para obtener los genes que codifican la región variable del anticuerpo. Primero, los ADNc se sintetizan con ARNm extraídos de las células productoras de anticuerpos como moldes para obtener bibliotecas de ADNc. Un kit comercializado se usa convenientemente en la síntesis de la biblioteca de ADNc. En realidad, los ARNm de solo un pequeño número de células se obtienen en cantidades muy pequeñas. Por lo tanto, su purificación directa da como resultado bajos rendimientos. De este modo, habitualmente se añaden los ARN portadores que se han demostrado que están libres de los genes del anticuerpo, seguido de la purificación del ARNm. Como alternativa, cuando los ARN se pueden extraer en cantidades determinadas de las células productoras de anticuerpos, se puede lograr una extracción eficiente sin usar ARN portadores. La adición de los ARN portadores puede ser innecesaria para la extracción de ARN de, por ejemplo, 10 o más o 30 o más, preferiblemente 50 o más células productoras de anticuerpos.

Los genes del anticuerpo se amplifican mediante PCR con las bibliotecas de ADNc obtenidas como moldes. Los cebadores para la amplificación por PCR de los genes del anticuerpo son conocidos en la técnica. Por ejemplo, los cebadores para la amplificación del gen de anticuerpo humano pueden diseñarse basándose en la divulgación del artículo (J. Mol. Biol. (1991) 222, 581-597) o similar. Estos cebadores tienen una secuencia de nucleótidos que difiere en la subclase de inmunoglobulina. Por lo tanto, cuando se usan como moldes bibliotecas de ADNc cuya subclase es desconocida, la PCR se realiza seleccionando cebadores teniendo en cuenta todas las posibilidades.

Específicamente, por ejemplo, con el fin de obtener genes que codifican IgG humana, se pueden usar cebadores, que son capaces de amplificar cada uno de los genes que codifican las cadenas pesadas  $\gamma 1$  a  $\gamma 4$  y las cadenas ligeras  $\kappa$  y  $\lambda$ . Los cebadores que se hibridan con una porción correspondiente a la región de bisagra se usan generalmente como cebadores 3' para amplificar genes de región variable de IgG. Por otro lado, los cebadores apropiados para cada subclase se pueden usar como cebadores 5'.

Los productos de PCR obtenidos a partir de los cebadores para la amplificación de genes para estas subclases de cadena pesada y ligera se preparan como sus respectivas bibliotecas independientes. Las bibliotecas así sintetizadas se pueden usar para remodelar inmunoglobulinas que comprenden las cadenas pesada y ligera en combinación. El anticuerpo de interés puede seleccionarse en función de las actividades de unión de las inmunoglobulinas remodeladas para DLL3 como referencia.

## (2) Introducción del gen del anticuerpo en la célula hospedadora

Para producir el anticuerpo anti-DLL3, los genes del anticuerpo clonado se pueden incorporar en vectores de expresión de manera que estos genes se expresen bajo el control de las regiones de control de la expresión. Las regiones de control de la expresión para la expresión del anticuerpo abarcan, por ejemplo, potenciadores y promotores. Posteriormente, las células hospedadoras apropiadas pueden transformarse con estos vectores de expresión para obtener células recombinantes que expresan el ADN que codifica el anticuerpo anti-DLL3.

Para la expresión del gen del anticuerpo, los ADN que codifican la cadena pesada y la cadena ligera del anticuerpo se pueden incorporar por separado en diferentes vectores de expresión. La misma célula hospedadora se puede cotransfectar con los vectores incorporados a la cadena pesada y a la cadena ligera y, por lo tanto, se les permite expresar moléculas de anticuerpo que comprenden las cadenas pesada y ligera. Como alternativa, los ADN que codifican cadenas pesadas y ligeras pueden incorporarse en vectores de expresión únicos, con los que se transforman las células hospedadoras (véase la Publicación Internacional N.º WO 94/11523).

En la técnica se conocen muchas combinaciones de hospedadores y vectores de expresión para introducir los genes de anticuerpos aislados en hospedadores apropiados para la preparación de anticuerpos. Todos estos sistemas de expresión se pueden aplicar a la presente invención. Cuando se utilizan células eucariotas como hospedadores, se pueden usar células de animales, plantas u hongos. Específicamente, los ejemplos de las células animales que pueden usarse en la presente invención pueden incluir las siguientes células:

- i) células de mamífero tales como células CHO, COS, mieloma, BHK (riñón de hámster bebé), Hela, Vero, HEK293, Ba/F3, HL-60, Jurkat y SK-HEP1;
- ii) células de anfibios tales como ovocitos de *Xenopus*; y
- iii) células de insecto tales como: células sf9, sf21 y Tn5.

En el caso de las células vegetales, en la técnica se conocen sistemas de expresión de genes de anticuerpos que implican células derivadas del género *Nicotiana* (p.ej., *Nicotiana tabacum*). Las células de callo cultivadas se pueden usar en la transformación de células vegetales.

Además, como células fúngicas se pueden usar las siguientes células:

- células derivadas de levaduras como el género *Saccharomyces* (p.ej., *Saccharomyces cerevisiae*) y hongos filamentosos del género *Pichia* (p.ej., *Pichia pastoris*) y células derivadas del género *Aspergillus* (p.ej., *Aspergillus niger*).

Como alternativa, los sistemas de expresión de genes de anticuerpos que usan células procariontas también son conocidos en la técnica. Por ejemplo, cuando se usan células bacterianas, se pueden usar en la presente invención células bacterianas derivadas de *E. coli*, *Bacillus subtilis* o similares.

Para la expresión génica usando células de mamífero, se puede ligar funcionalmente un promotor útil utilizado rutinariamente, el gen del anticuerpo a expresar, y una señal de poli A situada en dirección 3'. Los ejemplos del promotor/potenciador pueden incluir un promotor/potenciador temprano inmediato de citomegalovirus humano.

Además, por ejemplo, pueden usarse promotores/potenciadores de virus o promotores/potenciadores derivados de células de mamífero (por ejemplo, el factor de elongación humano 1 $\alpha$  (HEF1 $\alpha$ )) en la expresión del anticuerpo. Los ejemplos de los virus cuyo promotor/potenciador puede usarse pueden incluir específicamente retrovirus, poliomavirus, adenovirus y el virus de simio 40 (SV40).

El promotor/potenciador SV40 puede usarse de acuerdo con el método de Mulligan et al. (Nature (1979) 277.108). Además, el promotor/potenciador HEF1 $\alpha$  puede usarse fácilmente en la expresión génica de interés mediante el método de Mizushima et al. (Nucleic Acids Res. (1990) 18, 5322).

Cuando se producen anticuerpos usando células animales, la secuencia señal del gen de la cadena pesada o ligera del anticuerpo se usa preferiblemente como una secuencia señal requerida para la secreción extracelular. Además, se puede usar la secuencia señal de una proteína secretora tal como IL-3 o IL-6.

Para la expresión génica usando *E. coli*, se puede ligar funcionalmente un promotor útil utilizado rutinariamente, una secuencia señal para la secreción de anticuerpos, y el gen del anticuerpo que se va a expresar. Los ejemplos del promotor pueden incluir promotores lacZ y araB. El promotor lacZ puede usarse de acuerdo con el método de Ward et al. (Nature (1989) 341, 544-546; y FASEBJ. (1992) 6, 2422-2427). Como alternativa, el promotor araB puede usarse en la expresión génica de interés mediante el método de Better et al. (Science (1988) 240, 1041-1043).

Cuando se producen anticuerpos en el periplasma de *E. coli*, puede usarse una secuencia de señal pelB (Lei, S. P. et al., J. Bacteriol. (1987) 169, 4379) para la secreción de anticuerpos. A continuación, los anticuerpos producidos en el periplasma se separan y luego se vuelven a plegar mediante el uso de desnaturalizantes de proteínas tales como urea y hidrocloreuro de guanidina de modo que los anticuerpos resultantes tienen la actividad de unión deseada.

En los vectores de expresión puede insertarse un origen de replicación derivado de SV40, poliomavirus, adenovirus, virus del papiloma bovino (BPV) o similares. Además, se puede insertar un marcador de selección en los vectores de expresión para aumentar el número de copias de un gen en los sistemas de células hospedadoras. Específicamente, se pueden usar marcadores de selección, como el gen de la aminoglucósido fosfotransferasa (APH), el gen de la timidina quinasa (TK), el gen de la *E. coli* xantina-guanina fosforribosiltransferasa (Ecogpt), y el gen de la dihidrofolato reductasa (dhfr).

### (3) Obtención de anticuerpos de la célula hospedadora

Las células hospedadoras se transforman con estos vectores de expresión, y las células hospedadoras transformadas se cultivan *in vitro* o *in vivo* para producir el anticuerpo de interés. El cultivo de las células hospedadoras se realiza de acuerdo con un método conocido en la técnica. Por ejemplo, se puede usar un medio de cultivo DMEM, MEM, RPMI1640 o IMDM y se puede usar en combinación con una solución complementada con

suero tal como suero de ternera fetal (FCS).

Los anticuerpos así expresados y producidos pueden purificarse usando, solo o en combinación apropiada, métodos de purificación de proteínas habituales conocidos en la técnica. Por ejemplo, pueden seleccionarse columnas de afinidad o de cromatografía (por ejemplo, columnas de proteína A), filtros, ultrafiltración, separación de sales y diálisis y combinarse apropiadamente para separar y purificar los anticuerpos (Antibodies A Laboratory Manual. Ed Harlow, David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988).

Por lo tanto, también se hace referencia a un gen que codifica el anticuerpo descrito en la presente memoria. También se divulga un vector que comprende el gen. También se divulga una célula hospedadora que porta el vector. También se divulga un método para producir un anticuerpo codificado por el gen, que comprende la etapa de cultivar la célula hospedadora.

### 3. Producción de anticuerpos mediante un animal transgénico

Además de las células hospedadoras, los animales transgénicos también pueden usarse en la producción de anticuerpos recombinantes. Específicamente, el anticuerpo de interés se puede obtener a partir de animales transfectados con los genes que codifican este anticuerpo de interés. Por ejemplo, los genes del anticuerpo pueden insertarse en el marco en genes que codifican proteínas específicamente producidas en la leche para construir genes de fusión. Por ejemplo, la  $\beta$  caseína de cabra puede usarse como proteína secretada en la leche. Los fragmentos de ADN que contienen los genes de fusión que tienen el inserto del gen de anticuerpo se inyectan en embriones de cabra, que a su vez se introducen en cabras hembras. A partir de leche producida por cabras transgénicas (o prole de las mismas) por las cabras que han recibido los embriones, el anticuerpo deseado puede obtenerse como una proteína de fusión con la proteína de la leche. Además, en las cabras transgénicas, la hormona se puede usar de manera apropiada para aumentar la cantidad de leche que contiene el anticuerpo deseado producido a partir de las cabras transgénicas (Ebert, K. M. et al., Bio/Technology (1994) 12, 699-702).

### Composición farmacéutica

Dado que DLL3 está altamente expresada en tejidos de cáncer de pulmón microcítico, el anticuerpo anti-DLL3 tiene una actividad citotóxica específica de células cancerígenas. Por lo tanto, el anticuerpo anti-DLL3 es útil en el tratamiento del cáncer de pulmón que expresa DLL3.

Específicamente, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo que se une a la proteína DLL3 como un principio activo, en el que el anticuerpo tiene actividad citotóxica. En una realización, la composición farmacéutica es un inhibidor del crecimiento celular, particularmente, un agente anticanceroso. Preferiblemente, el inhibidor de crecimiento celular y el agente anticanceroso de la presente invención se administran a un sujeto que tiene cáncer de pulmón o que posiblemente tiene cáncer de pulmón.

El anticuerpo anti-DLL3 usado en la composición farmacéutica (por ejemplo, agente anticanceroso) de la presente invención no está particularmente limitado, y, por ejemplo, puede usarse cualquiera de los anticuerpos anti-DLL3 descritos anteriormente que tienen actividad citotóxica.

En la presente invención, la frase "que comprende el anticuerpo que se une a DLL3 como un principio activo" significa que comprende el anticuerpo anti-DLL3 como principio activo principal y no limita el contenido del anticuerpo anti-DLL3.

La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender un anticuerpo anti-DLL3 conjugado con una sustancia citotóxica como principio activo. Esta composición farmacéutica puede usarse como, por ejemplo, un inhibidor del crecimiento celular, particularmente, un agente anticanceroso. Preferiblemente, el inhibidor del crecimiento celular y el agente anticanceroso se administran a un sujeto que tiene cáncer o posiblemente tiene cáncer.

En la presente invención, la frase "que comprende el anticuerpo anti-DLL3 conjugado con sustancia citotóxica como principio activo" significa que comprende el anticuerpo anti-DLL3 conjugado con sustancia citotóxica como principio activo principal y no limita el contenido del anticuerpo anti-DLL3 conjugado con sustancia citotóxica.

Cuando la enfermedad objetivo de la composición farmacéutica de la presente invención es el cáncer, el cáncer objetivo es el cáncer de pulmón, particularmente el cáncer de pulmón microcítico. El cáncer puede ser cualquiera de los focos primarios y focos metastásicos.

La composición farmacéutica de la presente invención puede administrarse por vía oral o parenteral a un paciente. La administración parenteral es preferible. Los ejemplos específicos de dicho método de administración incluyen administraciones por inyección, transnasales, pulmonares y transdérmicas. Los ejemplos de administración de inyección incluyen inyecciones intravenosas, intramusculares, intraperitoneales y subcutáneas, a través de las cuales la composición farmacéutica de la presente invención se puede administrar sistémica o localmente. Además,

el método de administración puede seleccionarse apropiadamente según la edad o los síntomas del paciente. La dosis de la composición farmacéutica de la presente invención se puede seleccionar entre un intervalo de dosis de, por ejemplo, 0,0001 mg a 1000 mg por kg de peso corporal por dosificación. Como alternativa, la dosis se puede seleccionar entre un intervalo de, por ejemplo, 0,001 a 100.000 mg por cuerpo. Sin embargo, la composición farmacéutica de la presente invención no está limitada a estas dosis.

La composición farmacéutica de la presente invención se puede formular de acuerdo con un método estándar (p.ej., Remington's Pharmaceutical Science, última edición, Mark Publishing Company, Easton, EE. UU.) y puede contener adicionalmente vehículos o aditivos farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de los mismos incluyen, pero no se limitan a, tensioactivos, excipientes, agentes colorantes, agentes aromatizantes, conservantes, estabilizantes, tampones, agentes de suspensión, agentes de tonicidad, aglutinantes, disgregantes, lubricantes, promotores de flujo y correctores. Otros vehículos usados rutinariamente se pueden usar apropiadamente. Ejemplos específicos de los vehículos pueden incluir ácido silícico anhidro ligero, lactosa, celulosa cristalina, manitol, almidón, carmelosa cálcica, carmelosa sódica, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, dietilaminoacetato de polivinilacetato, polivinilpirrolidona, gelatina, triglicéridos de ácidos grasos de cadena media, aceite de ricino hidrogenado y polioxietileno 60, azúcar blanco, carboximetilcelulosa, almidón de maíz y sales inorgánicas.

Tras el contacto con las células que expresan DLL3, el anticuerpo anti-DLL3 presente en una composición farmacéutica de la presente invención puede dañar las células que expresan DLL3 o inhibir su crecimiento. Tal método que usa el anticuerpo anti-DLL3 también se incorpora en el alcance de la presente invención. El anticuerpo usado no está particularmente limitado, y, por ejemplo, puede usarse cualquiera de los anticuerpos descritos anteriormente. Las células a las que se une el anticuerpo anti-DLL3 no están particularmente limitadas siempre que las células expresen DLL3. En la presente invención, las células que expresan DLL3 son preferiblemente células cancerosas, más preferiblemente células de cáncer de pulmón, particularmente preferiblemente células de cáncer de pulmón microcítico.

El "contacto" se realiza, por ejemplo, añadiendo el anticuerpo a un medio de cultivo de células que expresan DLL3 cultivadas *in vitro*. El "contacto" también se realiza administrando el anticuerpo anti-DLL3 a animales no humanos implantados con células que expresan DLL3 en sus cuerpos o a animales que tienen endógenamente células cancerosas que expresan DLL3.

Los métodos que se muestran a continuación se usan preferiblemente para evaluar o determinar la citotoxicidad causada en las células que expresan DLL3 por el contacto del anticuerpo anti-DLL3. Ejemplos de los métodos para evaluar o determinar la actividad citotóxica *in vitro* puede incluir el ensayo de la actividad ADCC o CDC descrito anteriormente. Si el anticuerpo anti-DLL3 tiene o no una actividad ADCC o tiene una actividad CDC puede determinarse mediante un método conocido en la técnica (por ejemplo, Current protocols in Immunology, Capítulo 7. Immunologic studies in humans, Editor, John E, Coligan et al., John Wiley & Sons, Inc., (1993)). En el ensayo de actividad, los anticuerpos que tienen un isotipo idéntico al del anticuerpo anti-DLL3 y no se unen a las células se usan como anticuerpos de control de la misma manera que en el anticuerpo anti-DLL3. Cuando el anticuerpo anti-DLL3 exhibe una actividad citotóxica más fuerte que la de los anticuerpos de control, se puede determinar que el anticuerpo anti-DLL3 tiene la actividad.

El isotipo de un anticuerpo se define basándose en la secuencia de la región constante de la cadena pesada en la secuencia de aminoácidos de este anticuerpo. El isotipo del anticuerpo finalmente se determina dependiendo del cambio de clase causado por la recombinación genética en el cromosoma durante la maduración de los linfocitos B productores de anticuerpos *in vivo*. La diferencia en el isotipo refleja la diferencia entre las funciones fisiológicas/patológicas de los anticuerpos. Específicamente, se sabe que, por ejemplo, la potencia de la actividad citotóxica está influenciada no solo por los niveles de expresión del antígeno sino por los isotipos del anticuerpo. Por lo tanto, para el ensayo de actividad citotóxica descrito anteriormente, se prefiere que los anticuerpos usados como controles tengan un isotipo idéntico al del anticuerpo analito.

Además, para evaluar o determinar la actividad citotóxica *in vivo*, por ejemplo, las células cancerosas que expresan DLL3 se trasplantan por vía intradérmica o subcutánea a animales de experimentación no humanos. A continuación, el anticuerpo analito se administra por vía intravenosa o intraperitoneal a los mismos a diario o a algunos intervalos de unos pocos días desde el día de la administración o al día siguiente. La actividad citotóxica puede determinarse midiendo los tamaños del tumor a lo largo del tiempo. Los anticuerpos de control que tienen un isotipo idéntico a los mismos se administran de la misma manera en la evaluación *in vitro*. Cuando el grupo al que se ha administrado el anticuerpo anti-DLL3 tiene un tamaño tumoral significativamente menor que el del grupo al que se ha administrado el anticuerpo de control, se puede determinar que el anticuerpo anti-DLL3 tiene la actividad citotóxica. Cuando se usan ratones como animales no humanos de experimentación, preferiblemente se pueden usar ratones desnudos (nu/nu), que son genéticamente deficientes en la glándula del timo y por lo tanto carecen de las funciones de los linfocitos T. El uso de estos ratones puede excluir la participación de los linfocitos T endógenos de los animales de experimentación en la evaluación/determinación de la actividad citotóxica de los anticuerpos administrados.

Fármaco diagnóstico (método de diagnóstico)

También se hace referencia a un método para diagnosticar el cáncer, que comprende detectar la proteína DLL3 o un gen que codifica la proteína DLL3. Se ha confirmado que la expresión de DLL3 aumenta notablemente en tejidos cancerosos o líneas celulares cancerosas. Por lo tanto, DLL3 es útil como un marcador para la detección específica de cáncer.

5 Un ejemplo específico del método de diagnóstico puede incluir un método para diagnosticar el cáncer, que comprende las siguientes etapas:

- 10 (a) proporcionar una muestra aislada de un sujeto de prueba; y  
(b) detectar el nivel de expresión de la proteína DLL3 o el gen DLL3 en la muestra.

El método puede comprender además la etapa de

- 15 (c) evaluar la posibilidad de que el sujeto de prueba tenga cáncer, basándose en el nivel de expresión de la proteína DLL3 o el gen DLL3.

Detección de la proteína DLL3 o del gen que codifica la proteína DLL3

20 También se divulga un método en el que el cáncer se diagnostica mediante la detección de la proteína DLL3 en una muestra. Se prefiere que la detección de la proteína DLL3 se realice usando un anticuerpo que reconoce la proteína DLL3.

La detección abarca la detección cuantitativa o cualitativa. Los ejemplos de la detección cualitativa pueden incluir los siguientes ensayos:

- 25 – ensayo para determinar simplemente la presencia o ausencia de la proteína DLL3,  
– ensayo para determinar la presencia o ausencia de más de una cantidad predeterminada de la proteína DLL3, y  
– ensayo para comparar la cantidad de la proteína DLL3 con la contenida en otra muestra (p. ej., una muestra de control).

30 Por otro lado, los ejemplos de la detección cuantitativa pueden incluir la medición de una concentración de proteína DLL3 y la medición de la cantidad de la proteína DLL3.

35 La muestra de ensayo no está particularmente limitada siempre que la muestra contenga la proteína DLL3. Específicamente, son preferibles las muestras recogidas de cuerpos vivos tales como mamíferos. Las muestras recogidas de humanos son más preferibles. Los ejemplos específicos de la muestra de ensayo pueden incluir sangre, fluido intersticial, plasma, fluido extravascular, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial, líquido pleural, suero, linfa, saliva, orina y tejidos. La muestra es preferiblemente una muestra obtenida de la muestra de ensayo, tal como una preparación en la que se fijan tejidos o células recogidas de un cuerpo vivo, o un medio de cultivo celular.

40 El cáncer diagnosticado puede ser cualquier cáncer sin limitaciones particulares. Los ejemplos específicos de los mismos pueden incluir cáncer de pulmón, particularmente, cáncer de pulmón microcítico. Se puede diagnosticar cualquiera de los focos primarios y focos metastásicos de estos cánceres.

45 Cuando se detecta la proteína en la muestra de ensayo, se diagnostica el cáncer con su nivel como referencia. Específicamente, cuando la cantidad de proteína DLL3 detectada en la muestra de ensayo es mayor que la de un control negativo o un individuo sano, se demuestra que el sujeto de prueba tiene cáncer o muy posiblemente tenga cáncer en el futuro. Específicamente, también se divulga un método para diagnosticar el cáncer, que comprende las siguientes etapas:

- 50 (1) detectar el nivel de expresión de DLL3 en una muestra biológica recogida de un sujeto de prueba, y  
(2) comparar el nivel de expresión de DLL3 detectado en la etapa (1) con el de un control, en el que cuando el nivel de expresión de DLL3 es mayor que el del control, se determina que el sujeto de prueba tiene cáncer.

55 El control se refiere a una muestra de referencia para comparación y abarca controles negativos y muestras biológicas de individuos sanos. Los controles negativos se pueden obtener recogiendo muestras biológicas de individuos sanos y mezclarlos, si es necesario. El nivel de expresión de DLL3 en el control se puede detectar en paralelo con la detección del nivel de expresión de DLL3 en la muestra biológica del sujeto de prueba. Como alternativa, el nivel de expresión de DLL3 en un gran número de muestras biológicas de individuos sanos se puede detectar de antemano para determinar estadísticamente el nivel de expresión estándar en individuos sanos. Específicamente, por ejemplo, la media  $\pm 2 \times$  desviación estándar (D.E.) o la media  $\pm 3 \times$  desviación estándar (D.E.) también se puede usar como el valor estándar. Estadísticamente, la media  $\pm 2 \times$  desviación estándar (D.E.) y la media  $\pm 3 \times$  desviación estándar (D.E.) incluyen valores de 80 % y 90 % de los individuos sanos, respectivamente.

65 Como alternativa, el nivel de expresión de DLL3 en el control se puede fijar usando una curva ROC. La curva ROC, o curva característica operativa del receptor, es un gráfico que muestra la sensibilidad de detección en la ordenada y

las tasas de falsos positivos (es decir, "especificidad 1") en la abscisa. La curva ROC se puede obtener representando los cambios en la sensibilidad y la tasa de falsos positivos en una serie de valores de referencia variables para determinar el nivel de expresión de DLL3 en muestras biológicas.

- 5 El "valor de referencia" para obtener la curva ROC es un valor numérico utilizado temporalmente para el análisis estadístico. En general, el "valor de referencia" para obtener la curva ROC se varía en serie dentro de un intervalo que puede cubrir todos los valores de referencia seleccionables. Por ejemplo, el valor de referencia puede variarse entre los valores medidos mínimos y máximos medidos de DLL3 en una población a analizar.
- 10 Se puede seleccionar un valor estándar que se puede esperar que ofrezca la sensibilidad y precisión de detección deseadas en función de la curva ROC obtenida. El valor estándar establecido estadísticamente en función de la curva ROC o similar también se denomina valor de corte. En un método para detectar el cáncer basado en el valor de corte, la etapa (2) descrita anteriormente comprende comparar el nivel de expresión de DLL3 detectado en la etapa (1), con el valor de corte. A continuación, cuando el nivel de expresión de DLL3 detectado en la etapa (1) es mayor que el valor de corte, se detecta cáncer en el sujeto de prueba.
- 15

El nivel de expresión de DLL3 se puede determinar mediante un método arbitrario. Específicamente, el nivel de expresión de DLL3 puede determinarse evaluando la cantidad de ARNm de DLL3, la cantidad de proteína DLL3 o la actividad biológica de la proteína DLL3. La cantidad de ARNm de DLL3 o proteína DLL3 se puede determinar mediante un método como se describe en la presente memoria descriptiva.

20

El sujeto de prueba es particularmente preferiblemente un ser humano. Cuando se usa un animal no humano como sujeto de prueba, la proteína DLL3 a detectar se deriva de esta especie animal.

- 25 Un método para detectar la proteína DLL3 contenida en la muestra de ensayo no está particularmente limitado y es preferiblemente un método de detección inmunológica que usa el anticuerpo anti-DLL3 como se ilustra a continuación:

- 30 ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA),  
radioinmunoensayo (RIA),  
inmunoensayo enzimático (EIA),  
fluoroimunoensayo (FIA),  
inmunoensayo luminiscente (LIA),  
35 inmunoprecipitación (IP),  
inmunoanálisis turbidimétrico (TIA),  
*Western blot* (WB),  
método inmunohistoquímico (IHC),  
inmunodifusión radial única (SRID),  
40 *Dot Blot*, y  
*Slot blot*.

Entre estos enfoques, el método inmunohistoquímico (IHC) es un método de ensayo inmunológico preferible para diagnosticar el cáncer, que comprende la etapa de detectar proteínas DLL3 en cortes en los que se fijan tejidos o células obtenidas de un paciente que tiene cáncer. Los métodos inmunológicos descritos anteriormente, tales como el método inmunohistoquímico (IHC), son generalmente conocidos por los expertos en la materia.

45

Dado que DLL3 es una proteína de membrana cuya expresión se potencia de una manera específica de las células cancerígenas, las células cancerosas o los tejidos cancerosos pueden detectarse usando el anticuerpo anti-DLL3. Las células cancerosas contenidas en células o tejidos recogidos de cuerpos vivos se detectan mediante el análisis inmunohistológico.

50

Los tejidos cancerosos también pueden ser detectados *in vivo* usando el anticuerpo anti-DLL3. Este método comprende específicamente las etapas de: (1) administrar, a un sujeto de prueba, un anticuerpo marcado con material de marcaje (por ejemplo, radioisótopo) que se une a la proteína DLL3; y (2) detectar la acumulación del material de marcaje. El anticuerpo puede marcarse de manera detectable para rastrear el anticuerpo administrado en el cuerpo vivo. Por ejemplo, el anticuerpo puede marcarse con un material fluorescente o luminiscente o un radioisótopo, y puede rastrear su comportamiento *in vivo*. El anticuerpo marcado con el material fluorescente o luminiscente se puede observar usando un endoscopio o peritoneoscopio. La localización del anticuerpo puede obtenerse mediante el rastreo de la radioactividad del radioisótopo. La localización *in vivo* del anticuerpo anti-DLL3 representa la presencia de células cancerosas.

55

60

Se puede usar un nucleido emisor de positrones como radioisótopo para marcar el anticuerpo para la detección *in vivo* del cáncer. Por ejemplo, el anticuerpo puede marcarse con un nucleido emisor de positrones tal como <sup>18</sup>F, <sup>55</sup>Co, <sup>64</sup>Cu, <sup>66</sup>Ga, <sup>68</sup>Ga, <sup>76</sup>Br, <sup>89</sup>Zr y <sup>124</sup>I. Un método conocido en la técnica (Acta Oncol. 32, 825-830, 1993) puede usarse en el marcaje del anticuerpo anti-DLL3 con estos nucleidos emisores de positrones.

65

El anticuerpo anti-DLL3 marcado con el nucleido emisor de positrones se administra a humanos o animales. A continuación, la radiación emitida por el radionucleido se mide de manera no invasiva utilizando PET (tomógrafo de emisión de positrones) y se convierte en imágenes mediante un enfoque de tomografía computarizada. El aparato PET está diseñado para obtener datos de forma no invasiva sobre el comportamiento *in vivo* de fármacos o similares. El PET puede obtener imágenes cuantitativas de la intensidad de la radiación como intensidad de la señal. Mediante tal uso del PET, las moléculas de antígeno altamente expresadas en un cáncer particular pueden detectarse sin recoger muestras de pacientes. El anticuerpo anti-DLL3 puede radiomarcarse con un nucleido de vida corta usando un nucleido emisor de positrones tal como <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>N, <sup>15</sup>O, <sup>18</sup>F y <sup>45</sup>Ti, además de los nucleidos descritos anteriormente.

Se han llevado a cabo actividades de investigación y desarrollo, por ejemplo, sobre técnicas para producir nucleidos de vida corta usando un ciclotrón médico y los nucleidos descritos anteriormente o produciendo compuestos de radiomarcaje de vida corta. El anticuerpo anti-DLL3 puede marcarse con diversos radioisótopos mediante estas técnicas. El anticuerpo anti-DLL3 administrado a los pacientes se acumula en focos primarios y focos metastásicos de acuerdo con la especificidad del anticuerpo anti-DLL3 para tejidos patológicos en cada sitio. Cuando el anticuerpo anti-DLL3 se marca con el nucleido emisor de positrones, se puede detectar su radiactividad para detectar la presencia de focos primarios y focos metastásicos en base a la localización de la radioactividad. Un valor activo de radiación gamma o emisión de positrones de 25 a 4000 keV se puede usar apropiadamente para el uso diagnóstico. Además, también se puede esperar un efecto terapéutico seleccionando un nucleido apropiado y administrando el nucleido seleccionado en cantidades mayores. Un nucleido que proporciona un valor de radiación gamma o emisión de positrones de 70 a 700 keV se puede usar para obtener el efecto anticancerígeno atribuido a la radiación.

#### Detección del polinucleótido que codifica la proteína DLL3

En un aspecto alternativo del método, se detecta la expresión del polinucleótido de DLL3. El polinucleótido detectado no está particularmente limitado y es preferiblemente ARNm. La detección abarca la detección cuantitativa o cualitativa. Los ejemplos de detección cualitativa pueden incluir los siguientes procedimientos de ensayo:

- ensayo para determinar simplemente determinar la presencia o ausencia del ARNm de DLL3,
- ensayo para determinar la presencia o ausencia de más de una cantidad predeterminada del ARNm de DLL3, y
- ensayo para comparar la cantidad del ARNm de DLL3 con la contenida en otra muestra (p. ej., una muestra de control).

Por otro lado, los ejemplos de la detección cuantitativa pueden incluir la medición de una concentración de ARNm de DLL3 y la medición de la cantidad de ARNm de DLL3.

Se puede usar una muestra arbitraria que contenga el ARNm de DLL3 como muestra de ensayo. Las muestras recogidas de cuerpos vivos tales como mamíferos son preferibles. Las muestras recogidas de humanos son más preferibles. Los ejemplos específicos de la muestra de ensayo pueden incluir sangre, fluido intersticial, plasma, fluido extravascular, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial, líquido pleural, suero, linfa, saliva, orina y tejidos. La muestra es preferiblemente una muestra obtenida de la muestra de ensayo, tal como una preparación en la que se fijan tejidos o células recogidas de un cuerpo vivo, o un medio de cultivo celular. Estas muestras están abarcadas por la muestra de ensayo.

La hibridación *in situ* se usa preferiblemente para la muestra obtenida a partir de la muestra de ensayo, tal como una preparación en la que se fijan tejidos o células recogidas de un cuerpo vivo, o un medio de cultivo celular. La hibridación *in situ* se ha desarrollado como un enfoque para confirmar la presencia o ausencia o distribución de ADN o ARN particular en células o tejidos, y la fuerza de su expresión. Este método emplea los principios en los que un ácido nucleico de sonda que tiene una secuencia de nucleótidos complementaria a una secuencia de ácido nucleico particular intracelular tiene la propiedad de formar específicamente un complejo. La sonda se marca previamente con un radioisótopo (RI), una sustancia antigénica (hapteno) o similares. Como resultado, el sitio de hibridación puede distinguirse a través de la detección del marcador. Por lo tanto, la hibridación *in situ* se usa, por ejemplo, en la detección de ADN o ARN intracelular o similares. Preferiblemente, se puede usar RI para el marcaje de la sonda. Por ejemplo, se puede usar más preferiblemente el marcaje de fluorescencia con una sustancia no radiactiva tal como biotina o hapteno (por ejemplo, digoxigenina). Por ejemplo, un método de detección por hibridación *in situ* de fluorescencia llamada FISH se usa de manera particularmente preferible.

El cáncer diagnosticado es cáncer de pulmón, en particular, cáncer de pulmón microcítico. Se puede diagnosticar cualquiera de los focos primarios y focos metastásicos de estos cánceres.

Una especie animal arbitraria que expresa el gen DLL3 puede usarse como sujeto de prueba. El sujeto de prueba es particularmente preferiblemente un ser humano. Cuando se usa una especie animal no humana como sujeto de prueba, el gen DLL3 que se detectará se deriva de esta especie animal.

En lo sucesivo, se describirá un aspecto específico del método de detección. Primero, se prepara una muestra a partir de un sujeto de prueba. Posteriormente, se detecta el ARNm de DLL3 contenido en la muestra. En el método,

también se puede detectar el ADNc sintetizado a partir del ARNm. Cuando se detecta el ARNm de DLL3 o el ADNc que codifica DLL3 en la muestra de ensayo, se diagnostica que el sujeto de prueba posiblemente tenga cáncer. Por ejemplo, cuando la cantidad de ARNm de DLL3 o ADNc que codifica DLL3 detectada en la muestra de ensayo es mayor que en controles negativos o individuos sanos, se demuestra que el sujeto de prueba tiene cáncer o es altamente posible que tenga cáncer en el futuro.

Un método para detectar el ARNm es conocido en la técnica. Los ejemplos específicos del método que pueden usarse incluyen: hibridación de ácido nucleico usando muestras inmovilizadas en una fase sólida seleccionada de chips de genes, matrices de ADNc, y filtros de membrana; RT-PCR; PCR en tiempo real; método de resta; método de visualización diferencial; hibridación diferencial; e hibridación cruzada.

El método de detección puede automatizarse usando varios detectores automáticos. Tal automatización logra la detección de una gran cantidad de muestras en poco tiempo.

15 Kit para el diagnóstico del cáncer

También se describe un fármaco de diagnóstico o un kit para diagnóstico de cáncer, que comprende un reactivo para detectar proteína DLL3 en una muestra de ensayo. El fármaco de diagnóstico comprende al menos el anticuerpo anti-DLL3.

20 El reactivo para el diagnóstico del cáncer se puede combinar con otros factores utilizados en la detección de DLL3 para preparar un kit para el diagnóstico del cáncer. Específicamente, también se divulga un kit para el diagnóstico de cáncer, que comprende: un anticuerpo que se une a DLL3; y un reactivo para detectar la unión del anticuerpo a DLL3 y puede comprender además una muestra de control que comprende una muestra biológica que contiene DLL3. En el kit se puede incluir un manual para la instrucción de los procedimientos de ensayo.

### Ejemplos

30 En lo sucesivo, la presente invención se describirá más específicamente con referencia a los Ejemplos. Sin embargo, la presente invención no pretende limitarse a estos ejemplos.

#### [Ejemplo 1] Aumento de la transcripción de DLL3 (tipo delta 3) en el cáncer de pulmón microcítico

35 La distribución de la expresión génica del ARNm de DLL3 humana en cánceres clínicos, líneas celulares de cáncer y diversos órganos normales se analizó utilizando Human Exon 1.0 ST Array (Affymetrix, Inc.). En el análisis de expresión, los ARN totales utilizados se derivaron de sitios tumorales en 13 casos de tejidos de cáncer de pulmón microcítico aislados, 3 tipos de líneas celulares de cáncer de pulmón microcítico y 49 tipos de tejidos normales (adquiridos de Clontech Laboratories, Inc Ambion, Inc., Stratagene Corp., Cell Applications, Inc., Panomics, Inc., CHEMICON y BioChain Institute, Inc.). Todos los sitios tumorales en tejidos de cáncer clínico aislado y líneas celulares de cáncer (adquiridos de ATCC) se sometieron a extracción de ARN total usando Trizol (Invitrogen Corp.) de acuerdo con el protocolo incluido en el producto. El experimento de análisis de la expresión génica se llevó a cabo usando 1 µg de cada ARN total así obtenido de acuerdo con el GeneChip Whole Transcript (WT) Sense Target Labeling Assay Manual (Affymetrix, Inc.). Los datos del Human Exon 1.0 ST Array Data se digitalizaron utilizando el software ExACT (Exon Array Computational Tool) proporcionado por Affymetrix, Inc.

45 En Human Exon 1.0 ST Array estaban presentes 13 conjuntos de sondas básicas para DLL3. La media de los valores de expresión se determinó a partir de estos conjuntos de sondas, y el nivel de expresión génica se comparó entre los tejidos. Los datos de expresión obtenidos de los tejidos normales, los sitios del tumor en tejidos de cáncer de pulmón microcítico aislados, y las líneas celulares de cáncer de pulmón microcítico se muestran en la Figura 1.

50 Se encontró que la expresión del gen DLL3 humano estaba notablemente aumentada en los sitios tumorales en tejidos aislados de cáncer de pulmón microcítico y líneas celulares de cáncer de pulmón microcítico, en comparación con los tejidos normales, excepto el cerebro fetal. Estos resultados prometen la efectividad de la terapia usando un agente antitumoral dirigido molecularmente al DLL3 humano, es decir, la posibilidad de reducir el tamaño del tumor sin dañar los tejidos normales.

#### [Ejemplo 2] Clonación de ADNc y preparación de células recombinantes

60 El ADNc de DLL3 humano (NM\_016941) expuesto en las SEQ ID NOs: 1 y 57 se amplificó por PCR a partir de una biblioteca de ADNc de cerebro fetal humano y se clonó en vectores de expresión pMCN para mamíferos. El vector pMCN logra la expresión de un gen extraño bajo el control de un promotor de CMV de ratón (GenBank: U68299). El vector pMCN tiene un gen de resistencia a genética. Se transformó una línea celular CHO DG44 (Invitrogen Corp.) con el vector de expresión de DLL3 humano. Las células resistentes a los fármacos se seleccionaron en presencia de genética. Las células clonadas que expresan establemente la proteína humana DLL3 se seleccionaron usando anticuerpos anti-DLL3 comercializados (R & D Systems, Inc., MAB4315) para establecer células DLL3 humana/DG. 65 Asimismo, una línea de linfocitos pro B dependiente de IL-3 de ratón, Ba/F3, se transformó en el vector de expresión

de DLL3 humano para establecer células DLL3 humana/BaF3.

El ADNc de DLL3 de ratón (NM\_007866) expuesta en las SEQ ID N°: 2 y 58 se amplificó por PCR a partir de una biblioteca de ADNc fetal de ratón y se clonó en vectores de expresión pMCN para mamíferos. Se transformó una línea celular Ba/F3 con el vector de expresión de DLL3 de ratón. Las células resistentes a los fármacos se seleccionaron en presencia de geneticina. Las células que expresan la proteína DLL3 de ratón se seleccionaron usando anticuerpos comercializados (R & D Systems, Inc., MAB4315) para establecer células DLL3/BaF3 de ratón.

El ADNc de DLL1 humano (NM\_005618) expuesto en las SEQ ID NOs: 3 y 59 se amplificó por PCR a partir de una biblioteca de ADNc de bazo humano y se clonó en vectores de expresión pMCN para mamíferos. Se transformó una línea celular Ba/F3 con el vector de expresión de DLL1 humano. Las células resistentes a los fármacos se seleccionaron en presencia de geneticina. Las células que expresan la proteína DLL1 humana se seleccionaron usando anticuerpos comercializados (R & D Systems, Inc., MAB1818) para establecer células DLL1 humana/BaF3.

El ADNc de Notch1 humano (NM\_017617) expuesto en la SEQ ID NOs: 4 y 60 se amplificó por PCR a partir de una línea de células de cáncer de mama, biblioteca de ADNc DU4475 y se clonó en vectores de expresión pMCN para mamíferos. Se transformó una línea celular DG44 con el vector de expresión Notch1 humano. Las células resistentes a los fármacos se seleccionaron en presencia de geneticina. Las células que expresan la proteína Notch1 humana se seleccionaron usando anticuerpos comercializados (GeneTex Inc., GTX23294) para establecer células Notch1 humana/DG44.

Las líneas celulares que producen una proteína DLL3 soluble o su proteína variante de delección N-terminal se prepararon con el fin de obtener inmunógenos para la obtención de anticuerpos anti-DLL3 y determinar epítomos para los anticuerpos obtenidos. La secuencia extracelular de DLL3 humana está compuesta por un dominio DSL con motivo de unión al receptor Notch (números 176-215 en la secuencia de aminoácidos) y seis dominios similares a EGF (1: 216-249, 2: 274-310, 3: 312 -351, 4: 353 - 389, 5: 391 - 427, y 6: 429 - 465).

Se preparó y clonó ADNc que codifica una molécula quimérica de humana DLL3-Fc (SEQ ID NO: 5) que consiste en una región extracelular de DLL3 humana (27-492 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1) y la región constante de un anticuerpo IgG2a de ratón en vectores de expresión pMCN para mamíferos. Se transformó una línea celular DG44 con el vector de expresión de DLL3 humana-Fc. Las células resistentes a los fármacos se seleccionaron en presencia de geneticina. Los clones con un alto nivel de expresión de la proteína DLL3 humana-Fc se seleccionaron mediante ELISA usando anticuerpos anti-ratón para establecer células DG44 productoras de DLL3 humana-Fc.

Se preparó y clonó ADNc que codifica una molécula quimérica de DLL3delta1 humana-Fc (SEQ ID NO: 6) que consiste en una secuencia parcial de la región extracelular de DLL3 humana (176-492 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1) y la región constante de un anticuerpo IgG2a de ratón en vectores de expresión pMCN para mamíferos. Se transformó una línea celular DG44 con el vector de expresión de DLL3delta1 humana-Fc. Las células resistentes a los fármacos se seleccionaron en presencia de geneticina. Los clones con un alto nivel de expresión de la proteína DLL3delta1 humana-Fc se seleccionaron mediante ELISA usando anticuerpos anti-ratón para establecer células DG44 productoras de DLL3delta1 humana-Fc.

Se preparó y clonó ADNc que codifica una molécula quimérica de DLL3delta2 humana-Fc (SEQ ID NO: 7) que consiste en una secuencia parcial de la región extracelular de DLL3 humana (216-492 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1) y la región constante de un anticuerpo IgG2a de ratón en vectores de expresión pMCN para mamíferos. Se transformó una línea celular DG44 con el vector de expresión de DLL3delta2 humana-Fc. Las células resistentes a los fármacos se seleccionaron en presencia de geneticina. Los clones con un alto nivel de expresión de la proteína DLL3delta2 humana-Fc se seleccionaron mediante ELISA usando anticuerpos anti-ratón para establecer células DG44 productoras de DLL3delta2 humana-Fc.

Se preparó y clonó ADNc que codifica una molécula quimérica de DLL3-Fc de ratón (SEQ ID NO: 8) que consiste en una región extracelular de DLL3 de ratón (33-490 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2) y las secuencias de la región constante de un anticuerpo IgG2a de ratón en vectores de expresión pMCN para mamíferos. Se transformó una línea celular DG44 con el vector de expresión de DLL3-Fc de ratón. Las células resistentes a los fármacos se seleccionaron en presencia de geneticina. Los clones con un alto nivel de expresión de la proteína DLL3-Fc de ratón se seleccionaron mediante ELISA usando anticuerpos anti-ratón para establecer células DG44 productoras de DLL3-Fc de ratón.

Cada proteína de interés se purificó a partir del sobrenadante de cultivo de la línea celular productora de la proteína de fusión Fc mediante cromatografía en columna de afinidad con proteína G y cromatografía de filtración en gel. La concentración de la proteína purificada se determinó por ensayo de proteína DC (Bio-Rad Laboratories, Inc.) con la IgG conocida por su concentración como patrón.

**[Ejemplo 3] Obtención del anticuerpo anti-DLL3 y análisis de la internalización de epítomos y anticuerpos**

Se inmunizaron ratones Balb/c de seis a siete semanas (Charles River Laboratories Japan, Inc.) y MRL/MpJMsSlc-lpr/lpr (Japan SLC, Inc.). Para la estimulación inicial, las proteínas antigénicas preparadas en una emulsión usando un adyuvante completo de Freund (Becton, Dickinson and Company), se administraron por vía subcutánea a los mismos a una dosis de 0,1 mg de DLL3 humana-Fc/cabeza. Dos semanas más tarde, una emulsión de antígeno preparada usando un adyuvante incompleto de Freund se administró por vía subcutánea a los mismos a una dosis de 0,05 mg/cabeza un total de 3 a 6 veces una vez a la semana. Se administraron 0,05 mg de las proteínas antigénicas por vía intravenosa a cada ratón individual en el cual se había confirmado que tenía un aumento en el título de anticuerpos en su suero. Tres días más tarde, las células del bazo se extrajeron y mezclaron con células de mieloma de ratón P3-X63Ag8U1 (ATCC) a una relación de recuento celular de aproximadamente 3:1. Estas células se fusionaron mediante el método de polietilenglicol (PEG). Después de la eliminación de PEG por centrifugación, las células se suspendieron en un medio RPMI1640 que contenía 1 x suplemento de medio HAT (Sigma-Aldrich Corp.), 0,5 x BM-Condimed H1 Hybridoma, suplemento de clonación (Roche Diagnostics GmbH) y 10 % de suero bovino fetal para ajustar la concentración celular. A continuación, las células se sembraron en cada pocillo de una placa de 96 pocillos. Se confirmó la formación de colonias de hibridoma, y la presencia o ausencia de anticuerpos anti-DLL3 contenidos en el sobrenadante del cultivo se analizó a continuación mediante ELISA usando una placa recubierta con DLL3 humana-Fc. Las células de hibridoma contenidas en pocillos positivos se clonaron por el método de dilución limitante para establecer líneas de hibridoma que producen los anticuerpos anti-DLL3. Los anticuerpos monoclonales se isotiparon utilizando IsoStrip (Roche Diagnostics GmbH).

Cada anticuerpo monoclonal IgG se purificó a partir de los sobrenadantes de cultivo de los hibridomas establecidos mediante cromatografía en columna de afinidad con proteína G y tratamiento de desalinización. La concentración del anticuerpo purificado se determinó por ensayo de proteína DC.

La DLL3 humana-Fc, la DLL3 de ratón-Fc, la DLL3delta1 humana-Fc y la DLL3delta2 humana-Fc se inmovilizaron por separado en un inmunoplaqueta Nunc (439454). Posteriormente, la superficie sin reaccionar de la placa se bloqueó con una solución que contenía albúmina de suero bovino. Después del lavado, cada solución diluida de anticuerpo ajustada a una concentración apropiada se añadió a la misma y se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora. La solución de reacción se eliminó de la placa. Después de lavar con TBS que contiene Tween 20, se añadieron anticuerpos anti IgG de ratón marcados con fosfatasa alcalina a la placa y se incubaron durante 1 hora. Después del lavado de la placa, se añadió a la misma un sustrato de fosfatasa alcalina Sigma 104 y se incubó a temperatura ambiente. Después de la incubación, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 405 nm y una longitud de onda de referencia de 655 nm. Los resultados se muestran en la Figura 2. Todos los anticuerpos purificados se unieron a la DLL3 humana-Fc de una manera dependiente de la dosis. Los anticuerpos monoclonales DL301, DL302, DL306 y DL312 y el anticuerpo comercializado MAB4315 se unieron a la DLL3-Fc de ratón. El anticuerpo comercialmente disponible MAB4315 se unió a la DLL3delta1 humana-Fc, pero no se unió a la DLL3delta2 humana-Fc, lo que demuestra que su epítipo estaba localizado en el dominio DSL. Los anticuerpos DL303, DL304, DL307 y DL311 no se unen ni a DLL3delta1 humana-Fc ni a DLL3delta2 humana-Fc. Por lo tanto, los epítopos predichos para estos anticuerpos se localizan entre los restos 27 y 175 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1. DL301, DL302, DL305, DL306, DL308, DL309 y DL312 se unieron tanto a DLL3delta1 humana-Fc como a DLL3delta2 humana-Fc, lo que demuestra que los epítopos para estos anticuerpos se localizaron en los restos 216-492 en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1. En la Figura 9 se muestra la estructura esquemática de la proteína DLL3 de longitud completa y la proteína de fusión DLL3-Fc soluble y un sitio reconocido por cada anticuerpo anti-DLL3.

La unión de cada anticuerpo monoclonal a la DLL3 humana expresada en una membrana celular y el comportamiento de un complejo de anticuerpo monoclonal anti-DLL3 humana en la membrana celular se analizaron por citometría de flujo. Las células DLL3 humanas/BaF3 se suspendieron en un tampón FACS (PBS que contenía suero bovino fetal al 1 % y azida sódica al 0,05 %). La suspensión celular de  $1 \times 10^6$  células/ml se hicieron reaccionar con el anticuerpo monoclonal (concentración final: 5  $\mu\text{g/ml}$ ) a 4 °C durante 30 minutos. Después de la centrifugación y la eliminación del sobrenadante, las células se lavaron una vez con un tampón FACS. Se añadieron anticuerpos IgG (H+L) anti-ratón marcados con FITC (Beckman Coulter, Inc.) y se incubaron a 4 °C durante 30 minutos. Los anticuerpos FITC sin reaccionar se eliminaron mediante centrifugación. A continuación, las células se resuspendieron y se analizaron usando un citómetro de flujo FACSCalibur (Becton, Dickinson and Company). Con el fin de analizar el movimiento o la desaparición del complejo de DLL3-anticuerpo de la membrana celular, se suspendieron células DLL3/BaF3 humanas en un medio de cultivo RPMI1640 que contenía suero bovino fetal al 10 % (FBS) e IL3 de ratón. La suspensión celular de  $1 \times 10^6$  células/ml se mezcló con el anticuerpo monoclonal (concentración final: 5  $\mu\text{g/ml}$ ) y se hicieron reaccionar a 37 °C durante 1 hora o 4 horas en una incubadora de CO<sub>2</sub>. Después de la reacción, la cantidad de anticuerpo unido a la membrana celular se analizó mediante citometría de flujo de la misma manera que anteriormente. La media geométrica de los valores de intensidad de fluorescencia (X Media Geo) en un gráfico de histograma celular se determinó usando el software analítico CELLQuest Pro incluido en FACSCalibur. Todos los anticuerpos monoclonales anti-DLL3 aislados se unieron a DLL3 en las células (Figura 3 (a)). La reacción del anticuerpo con las células a 4 °C inhibe la fluidez de la membrana, tal como la captación celular del complejo de DLL3-anticuerpo de la membrana celular. La reacción del anticuerpo con las células a 37 °C puede causar la absorción celular del complejo anticuerpo-DLL3 y el sombreado (liberación de la membrana celular) resultante de la digestión con proteasa o similares. La cantidad de cada anticuerpo monoclonal unido a la membrana celular como resultado de la incubación a 37 °C durante 1 hora o 4 horas se muestra en la Figura 3(b) como un valor

relativo en comparación con la de 4 °C. Como resultado de la incubación a 37 °C, se disminuyó la cantidad de anticuerpo DL303, DL304, DL305, DL308, DL309 o MAB4315 en la superficie de la membrana celular. Estos resultados sugieren la internalización o el sombreado del complejo DLL3-anticuerpo. Por el contrario, como resultado de la incubación a 37 °C, la cantidad del anticuerpo DL301, DL306, DL307, DL311 o DL312 en la superficie de la membrana celular apenas cambió o aumentó. El último resultado demostró que estos anticuerpos podían residir de manera estable en la forma de un complejo DLL3 en la membrana celular.

El número de la proteína DLL3 en la superficie celular se determinó usando un QIFIKIT (DAKO, F0479) para la determinación cuantitativa del antígeno de superficie celular mediante citometría de flujo. El análisis se realizó con el anticuerpo anti-DLL3 DL303 (concentración final: 5 µg/ml) como anticuerpo primario de acuerdo con el protocolo incluido en el mismo. Los números del antígeno en las superficies de las células DLL3 humanas/BaF3, NCI-H1184 (ATCC), NCI-H1436 (ATCC) y Y79 (banco de células Riken) fueron aproximadamente 9000, 7000, 6000 y 3000, respectivamente.

#### **[Ejemplo 4] Inducción de la actividad ADCC por los anticuerpos anti-DLL3 e inhibición del crecimiento mediada por el complejo anticuerpo-toxina**

Cada anticuerpo anti-DLL3 se examinó para determinar su actividad inductora de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) contra células que expresan DLL3 marcadas con calceína. DLL3 humana/BaF3 que expresa DLL3 y líneas celulares de cáncer de pulmón microcítico NCI-H1184 (ATCC) se cultivaron por separado durante 90 minutos en presencia de 20 µg/ml de calceína-AM (Dojindo, 349-07201), a continuación se centrifugaron y se lavaron para preparar células diana marcadas con calceína. Las células diana fueron sembradas a razón de  $1 \times 10^4$  células/pocillo a una placa de 96 pocillos (Costar 3799). Posteriormente, se añadió al anticuerpo ajustado a una concentración final apropiada y se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadieron células efectoras a razón de  $5 \times 10^4$  células/pocillo. La placa de reacción se incubó a 37 °C en una incubadora de CO<sub>2</sub>. Las células efectoras utilizadas fueron células NK92 que expresan una molécula quimérica de FcγR3 de ratón-FcγR3 humano (WO 2008/093688). Después de 4 horas de incubación, la placa se centrifugó y se recogieron 100 µl del sobrenadante del cultivo de cada pocillo. La intensidad de fluorescencia se midió usando ARVO SX (Wallac).

La actividad inductora de ADCC se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{ADCC} [\%] = (A - C) / (B - C) \times 100,$$

en la que A representa la intensidad de fluorescencia en cada pocillo; B representa la media de la intensidad de fluorescencia en el sobrenadante de células lisadas con Nonidet P-40 con la concentración final de 1 %; y C representa la media de intensidad de fluorescencia en un pocillo suplementado con solo un medio. La media y la desviación estándar se calcularon a partir de tres mediciones en cada condición experimental. La Figura 4 muestra la actividad inductora de ADCC del anticuerpo añadido a la concentración final de 2,5 µg/ml frente a las células DLL3/BaF3. No se confirmó actividad ADCC para los anticuerpos de control IgG1 e IgG2b, mientras que la actividad inductora de ADCC se confirmó en DL301, DL306 y DL312. No se confirmó actividad inductora de ADCC distinta en el anticuerpo monoclonal comercializado MAB4315. La Figura 5 muestra que los anticuerpos DL301, DL306 y D312 inducen ADCC contra DLL3/BaF3 y NCI-H1184 de una manera dependiente de la dosis.

Cada anticuerpo monoclonal anti-DLL3 se evaluó para determinar su captación celular usando un anticuerpo secundario anti-ratón marcado con toxina Mab-ZAP (Advanced Targeting Systems). Las células DLL3/BaF3 se sembraron a razón de  $5 \times 10^3$  células/pocillo a una placa de 96 pocillos. Posteriormente, se añadieron al anticuerpo monoclonal ratón anti-DLL3 de ratón y Mab-ZAP (concentración final: 1 µg/ml) y se incubaron a 37 °C en una incubadora de CO<sub>2</sub>. Cuatro días después, se añadió a esto el Cell Count Reagent SF (Nacalai Tesque, Inc.). La absorbancia se midió a 450 nm y a una longitud de onda de control de 620 nm usando un lector de microplacas para determinar el crecimiento celular (Figura 6). La adición del anticuerpo monoclonal anti-DLL3 y Mab-ZAP a las células inhibió el crecimiento celular. Los anticuerpos DL301, DL306 y DL312 en los que se confirmó que tenían una actividad inductora de ADCC permanecieron en grandes cantidades en células que expresan DLL3 después de mezclarse con las células y cultivarse a 37 °C, y exhibieron un bajo efecto inhibitor del crecimiento provocado por la absorción celular del complejo Mab-ZAP.

#### **[Ejemplo 5] Clonación de la región variable del anticuerpo y preparación del anticuerpo recombinante**

Se preparó una biblioteca SMART 5'-RACE cDNA (Clontech Laboratories, Inc.) a partir de los ARN totales de los hibridomas que producen cada anticuerpo anti-DLL3. La preparación del ARN total se realizó usando la columna RNeasy Mini (Qiagen). La preparación de la biblioteca de ADNc siguió las instrucciones del fabricante. Las secuencias que codifican las regiones variables del anticuerpo (VH y VL) se amplificaron por PCR usando cebadores complementarios a secuencias que codifican las regiones constantes del anticuerpo. Los fragmentos así amplificados por PCR se clonaron en pCR2.1TOPO y se secuenciaron. Se construyeron vectores de expresión de anticuerpos quiméricos que contienen las secuencias que codifican VH y VL obtenidas y las secuencias que codifican la región constante de la IgG1 humana. Las secuencias que codifican la cadena ligera y la cadena pesada se incorporaron en un vector de expresión para células de mamífero y se transcribieron bajo el control de un

promotor de CMV de ratón. La Tabla 1 muestra las SEQ ID NOs de las secuencias de la región variable del anticuerpo identificadas y sus secuencias de CDR, secuencias del anticuerpo de ratón de longitud completa y las secuencias del anticuerpo quimérico.

5

[Tabla 1]

	CDR1	CDR2	CDR3	Secuencia de la región variable
DL301	Cadena pesada (SEQ ID NO:12)	NYLIE (SEQ ID NO:13)	VMNPGSGGTHYSEKFRG (SEQ ID NO:14)	SDYDYVYYAMDY (SEQ ID NO:9)
	Cadena ligera (SEQ ID NO:18)	KASQDINSYLI (SEQ ID NO:19)	RTNRLVD (SEQ ID NO:20)	LQYDEFPT (SEQ ID NO:15)
DL306	Cadena pesada (SEQ ID NO:24)	DYYMIK (SEQ ID NO:25)	DINPNGDITFYNQKFKG (SEQ ID NO:26)	DGNVAYFDY (SEQ ID NO:21)
	Cadena ligera (SEQ ID NO:30)	RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:31)	LASNLES (SEQ ID NO:32)	QHSRHLPT (SEQ ID NO:27)
DL309	Cadena pesada (SEQ ID NO:36)	NYVIE (SEQ ID NO:37)	EILPGSGSTTYNEKFKG (SEQ ID NO:38)	WGAREPGPY (SEQ ID NO:33)
	Cadena ligera (SEQ ID NO:42)	KASQNVGTNVA (SEQ ID NO:43)	SASYRYS (SEQ ID NO:44)	QQYNNYPLT (SEQ ID NO:39)
DL312	Cadena pesada (SEQ ID NO:48)	DYYMIN (SEQ ID NO:49)	LIRNKANGYTTTEYNASVKG (SEQ ID NO:50)	DSDGYEYFYFDY (SEQ ID NO:45)
	Cadena ligera (SEQ ID NO:54)	RASQESDYL (SEQ ID NO:55)	AASTLDS (SEQ ID NO:56)	LQYASYPYT (SEQ ID NO:51)

	Secuencia del anticuerpo de ratón	Secuencia del anticuerpo quimérico
DL301	Cadena pesada (SEQ ID NO:10)	(SEQ ID NO:11)
	Cadena ligera (SEQ ID NO:16)	(SEQ ID NO:17)
DL306	Cadena pesada (SEQ ID NO:22)	(SEQ ID NO:23)
	Cadena ligera (SEQ ID NO:28)	(SEQ ID NO:29)
DL309	Cadena pesada (SEQ ID NO:34)	(SEQ ID NO:35)
	Cadena ligera (SEQ ID NO:40)	(SEQ ID NO:41)
DL312	Cadena pesada (SEQ ID NO:46)	(SEQ ID NO:47)
	Cadena ligera (SEQ ID NO:52)	(SEQ ID NO:53)

Las células COS-7 se transfectaron con cada vector de expresión de anticuerpo quimérico y se dejaron expresar transitoriamente el anticuerpo quimérico. Se confirmó que el anticuerpo quimérico en el sobrenadante de cultivo de COS-7 se unía a la proteína humana DLL3 mediante citometría de flujo y ELISA. La concentración de anticuerpo quimérico en el sobrenadante de cultivo de COS-7 se calculó mediante ELISA tipo sándwich. En este cálculo de la concentración, se usó como patrón un anticuerpo quimérico humano conocido por su concentración. El anticuerpo quimérico (concentración final: 1 µg/ml) se añadió a células DLL3 humanas/BaF3 suspendidas en un tampón FACS (PBS que contiene 1 % de suero bovino fetal). Después de incubar a 4 °C durante 30 minutos y lavar, las células se hicieron reaccionar con anticuerpos antihumanos marcados con FITC (Beckman Coulter, Inc.), y se analizó la unión del anticuerpo quimérico usando un citómetro de flujo FACSCalibur. Como se muestra en la Figura 7, los anticuerpos quiméricos DL301, DL309 y DL312 se unieron a DLL3 humana/BaF3. Ninguno de los anticuerpos quiméricos se unió a las células Ba/F3, que eran una línea parental de las células de expresión forzada. La DLL3 humana-Fc se inmovilizó en un inmunoplaaca Nunc, y se analizó la unión de cada anticuerpo quimérico a la proteína inmovilizada. Para detectar anticuerpos quiméricos unidos a antígeno, se añadió el anticuerpo quimérico a la misma, y después se añadieron anticuerpos anti-humanos marcados con fosfatasa alcalina (Biosource, AH10305) y un sustrato de fosfatasa alcalina Sigma 104 en este orden. Se determinó la absorbancia. Los anticuerpos quiméricos DL301, DL309 y DL312 se unieron a la DLL3 humana-Fc de una manera dependiente de la dosis (Figura 8 (a)).

#### [Ejemplo 6] Agrupación del epítipo por ELISA competitivo

La competencia de un anticuerpo quimérico y un anticuerpo de ratón por unirse a la molécula de antígeno se analizó mediante ELISA (Figura 8(b)). Se añadió DLL3 humana-Fc a 10 ng/pocillo a una inmunoplaaca Nunc y se inmovilizó sobre la misma. Se añadió una mezcla (concentración final: 50 ng/ml) del anticuerpo quimérico y el anticuerpo de ratón diluido apropiadamente a la placa inmovilizada con proteína DLL3-Fc. La placa se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora y luego se lavó. Se añadieron anticuerpos anti-humanos marcados con fosfatasa alcalina y se incubaron. Después de la incubación, se añadió Sigma 104 a la misma, y se midió la absorbancia. La unión del anticuerpo quimérico a la molécula de antígeno compitió con la del anticuerpo monoclonal de ratón original a la misma. Los anticuerpos distintos del anticuerpo de ratón DL301 no inhibieron la unión del anticuerpo quimérico DL301 al antígeno. Los anticuerpos distintos del anticuerpo de ratón DL312 no inhibieron la unión del anticuerpo quimérico DL312 al antígeno. Estos resultados demostraban que DL301 y DL312 se unían a sus respectivos epítipos únicos. Los anticuerpos de ratón DL305, DL308 y DL309 inhibieron la unión del anticuerpo quimérico DL309 al antígeno casi al mismo nivel, lo que sugiere que entre estos 3 anticuerpos un epítipo era el mismo. El anticuerpo de ratón DL306 que se confirmó que tenía una actividad inductora de ADCC no inhibía la unión del anticuerpo quimérico DL301, DL309 o DL312 al antígeno. Estos resultados demostraron que DL306 reconocía un epítipo independiente del de DL301, DL309 o DL312.

#### [Ejemplo 7] Establecimiento de una línea celular que expresa anticuerpo anti-DLL3 recombinante y purificación del anticuerpo recombinante

Las células COS-7 se transfectaron con el vector de expresión del anticuerpo quimérico DL306 y se dejaron expresar transitoriamente el anticuerpo quimérico. Se confirmó que el anticuerpo quimérico en el sobrenadante de cultivo de COS-7 se unía a la proteína DLL3 humana por citometría de flujo. La concentración de anticuerpo quimérico en el sobrenadante de cultivo de COS-7 se calculó mediante ELISA tipo sándwich. En este cálculo de la concentración, se usó como patrón un anticuerpo quimérico humano conocido por su concentración. El anticuerpo quimérico (concentración final: 1 µg/ml) se añadió a células humanas DLL3/BaF3 suspendidas en un tampón FACS (PBS que contiene 1 % de suero bovino fetal). Después de incubar a 4 °C durante 30 minutos y lavar, las células se hicieron reaccionar con anticuerpos anti-humanos marcados con FITC (Beckman Coulter, Inc.), y se analizó la unión del anticuerpo quimérico usando un citómetro de flujo FACSCalibur. Como se muestra en la Figura 10, el anticuerpo quimérico DL306 se unió a la DLL3 humana/BaF3 y no se unió a las células Ba/F3, que eran una línea parental.

Se transformó una línea celular DG44 con el vector de expresión de anticuerpo quimérico DL301, DL306, DL309 o DL312. Las células resistentes a los fármacos se seleccionaron en presencia de geneticina. Los clones con una alta expresión del anticuerpo quimérico humano se seleccionaron por ELISA usando anticuerpos anti-humanos para establecer células DG44 productoras de anticuerpos quiméricos humanos.

Cada proteína de interés se purificó a partir del sobrenadante de cultivo de la línea celular productora de anticuerpos quiméricos humanos mediante cromatografía en columna de afinidad con rProteína A y cromatografía de filtración en gel. La concentración de la proteína purificada se determinó por ensayo de la proteína DC (Bio-Rad Laboratories, Inc.) con la IgG conocida por su concentración como patrón.

Se construyó el vector de expresión del anticuerpo IgG2a de ratón que contiene las secuencias que codifican VH y VL de DL301, DL306 o DL312 y las secuencias que codifican la región constante de IgG2a de ratón. Las secuencias que codifican la cadena ligera y la cadena pesada se incorporaron en un vector de expresión para células de mamífero y se transcribieron bajo el control de un promotor de CMV de ratón. Una línea de células CHO deficiente en el transportador de fucosa (WO2005/017155) se transformó con el vector de expresión del anticuerpo IgG2a de ratón. Las células resistentes a los fármacos se seleccionaron en presencia de geneticina. Los clones con una alta expresión del anticuerpo IgG2a de ratón se seleccionaron mediante ELISA usando anticuerpos IgG2a anti-ratón para

establecer células CHO productoras de anticuerpos IgG2a anti-ratón con menor proporción de residuos de fucosa. Cada proteína de interés se purificó a partir del sobrenadante de cultivo de la línea celular productora de anticuerpos IgG2a con menor proporción de residuos de fucosa de ratón mediante cromatografía en columna de afinidad con proteína G y cromatografía de filtración en gel. La concentración de la proteína purificada se determinó por ensayo de proteína DC con la IgG conocida por su concentración como patrón.

[Tabla 2]

DL301	Cadena pesada	(SEQ ID NO:69)
	Cadena ligera	(SEQ ID NO:16)
DL306	Cadena pesada	(SEQ ID NO:70)
	Cadena ligera	(SEQ ID NO:28)
DL312	Cadena pesada	(SEQ ID NO:71)
	Cadena ligera	(SEQ ID NO:52)

### [Ejemplo 8] Inducción de la actividad ADCC por el anticuerpo recombinante anti-DLL3

Se examinaron anticuerpos anti-DLL3 recombinantes IgG2a quiméricos humanos y de ratón en cuanto a sus actividades inductoras de citotoxicidad celular dependientes de anticuerpos (ADCC) contra células que expresan DLL3 marcadas con calceína. Las líneas celulares DLL3 humana/BaF3 que expresa DLL3 y las líneas celulares de cáncer de pulmón microcítico NCI-H1184 (ATCC) se cultivaron por separado durante 90 minutos en presencia de 20 µg/ml de calceína AM (Dojindo, 349-07201), a continuación se centrifugaron y se lavaron para preparar las células diana marcadas con calceína. Las células diana se sembraron a razón de  $1 \times 10^4$  células/pocillo en una placa de 96 pocillos (Coster 3799). Posteriormente, se añadió al anticuerpo ajustado a una concentración final apropiada y se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadieron células efectoras a razón de  $5 \times 10^4$  células/pocillo. La placa de reacción se incubó a 37 °C en una incubadora de CO<sub>2</sub>. Las células efectoras utilizadas para el anticuerpo IgG2a de ratón recombinante con menor proporción de residuos de fucosa fueron células NK92 que expresan una molécula quimérica FcyR3 de ratón-FcyR3 humana (WO 2008/093688). Las células efectoras utilizadas para el anticuerpo recombinante quimérico humano fueron células NK92 que expresan una molécula FcyR3 humana. Después de 4 horas de incubación, la placa se centrifugó y se recogieron 100 µl del sobrenadante del cultivo de cada pocillo. La intensidad de la fluorescencia se midió usando ARVO SX. La actividad inductora de ADCC se calculó mediante el método descrito en el Ejemplo 4.

La Figura 11 muestra que los anticuerpos quiméricos humanos recombinantes DL301, DL306, DL309 y D312 inducen ADCC contra DLL3/BaF3 y NCI-H1184 de una manera dependiente de la dosis.

La Figura 12 muestra que los anticuerpos IgG2a de ratón recombinantes con menor proporción de residuos de fucosa DL301, DL306 y D312 inducen ADCC contra DLL3/BaF3 y NCI-H1184 de una manera dependiente de la dosis.

### LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Forerunner Pharma Research Co., Ltd.; The University of Tokyo

<120> Anticuerpo anti-DLL3

<130> PCG-9033WO

<150> JP 2010-019391

<151> 29-01-2010

<160> 71

<170> PatentIn versión 3.1

<210> 1

<211> 618

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

ES 2 674 420 T3

Met Val Ser Pro Arg Met Ser Gly Leu Leu Ser Gln Thr Val Ile Leu  
1 5 10 15  
Ala Leu Ile Phe Leu Pro Gln Thr Arg Pro Ala Gly Val Phe Glu Leu  
20 25 30  
Gln Ile His Ser Phe Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Ala Pro Arg Ser  
35 40 45  
Pro Cys Ser Ala Arg Leu Pro Cys Arg Leu Phe Phe Arg Val Cys Leu  
50 55 60  
Lys Pro Gly Leu Ser Glu Glu Ala Ala Glu Ser Pro Cys Ala Leu Gly  
65 70 75 80  
Ala Ala Leu Ser Ala Arg Gly Pro Val Tyr Thr Glu Gln Pro Gly Ala  
85 90 95  
Pro Ala Pro Asp Leu Pro Leu Pro Asp Gly Leu Leu Gln Val Pro Phe  
100 105 110  
Arg Asp Ala Trp Pro Gly Thr Phe Ser Phe Ile Ile Glu Thr Trp Arg  
115 120 125  
Glu Glu Leu Gly Asp Gln Ile Gly Gly Pro Ala Trp Ser Leu Leu Ala  
130 135 140  
Arg Val Ala Gly Arg Arg Arg Leu Ala Ala Gly Gly Pro Trp Ala Arg  
145 150 155 160  
Asp Ile Gln Arg Ala Gly Ala Trp Glu Leu Arg Phe Ser Tyr Arg Ala  
165 170 175  
Arg Cys Glu Pro Pro Ala Val Gly Thr Ala Cys Thr Arg Leu Cys Arg  
180 185 190  
Pro Arg Ser Ala Pro Ser Arg Cys Gly Pro Gly Leu Arg Pro Cys Ala  
195 200 205  
Pro Leu Glu Asp Glu Cys Glu Ala Pro Leu Val Cys Arg Ala Gly Cys  
210 215 220  
Ser Pro Glu His Gly Phe Cys Glu Gln Pro Gly Glu Cys Arg Cys Leu  
225 230 235 240  
Glu Gly Trp Thr Gly Pro Leu Cys Thr Val Pro Val Ser Thr Ser Ser  
245 250 255  
Cys Leu Ser Pro Arg Gly Pro Ser Ser Ala Thr Thr Gly Cys Leu Val  
260 265 270  
Pro Gly Pro Gly Pro Cys Asp Gly Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Ser  
275 280 285  
Cys Ser Glu Thr Pro Arg Ser Phe Glu Cys Thr Cys Pro Arg Gly Phe  
290 295 300  
Tyr Gly Leu Arg Cys Glu Val Ser Gly Val Thr Cys Ala Asp Gly Pro  
305 310 315 320  
Cys Phe Asn Gly Gly Leu Cys Val Gly Gly Ala Asp Pro Asp Ser Ala  
325 330 335  
Tyr Ile Cys His Cys Pro Pro Gly Phe Gln Gly Ser Asn Cys Glu Lys  
340 345 350  
Arg Val Asp Arg Cys Ser Leu Gln Pro Cys Arg Asn Gly Gly Leu Cys  
355 360 365  
Leu Asp Leu Gly His Ala Leu Arg Cys Arg Cys Arg Ala Gly Phe Ala  
370 375 380  
Gly Pro Arg Cys Glu His Asp Leu Asp Asp Cys Ala Gly Arg Ala Cys  
385 390 395 400

Ala Asn Gly Gly Thr Cys Val Glu Gly Gly Gly Ala His Arg Cys Ser  
 405 410 415  
 Cys Ala Leu Gly Phe Gly Gly Arg Asp Cys Arg Glu Arg Ala Asp Pro  
 420 425 430  
 Cys Ala Ala Arg Pro Cys Ala His Gly Gly Arg Cys Tyr Ala His Phe  
 435 440 445  
 Ser Gly Leu Val Cys Ala Cys Ala Pro Gly Tyr Met Gly Ala Arg Cys  
 450 455 460  
 Glu Phe Pro Val His Pro Asp Gly Ala Ser Ala Leu Pro Ala Ala Pro  
 465 470 475 480  
 Pro Gly Leu Arg Pro Gly Asp Pro Gln Arg Tyr Leu Leu Pro Pro Ala  
 485 490 495  
 Leu Gly Leu Leu Val Ala Ala Gly Val Ala Gly Ala Ala Leu Leu Leu  
 500 505 510  
 Val His Val Arg Arg Arg Gly His Ser Gln Asp Ala Gly Ser Arg Leu  
 515 520 525  
 Leu Ala Gly Thr Pro Glu Pro Ser Val His Ala Leu Pro Asp Ala Leu  
 530 535 540  
 Asn Asn Leu Arg Thr Gln Glu Gly Ser Gly Asp Gly Pro Ser Ser Ser  
 545 550 555 560  
 Val Asp Trp Asn Arg Pro Glu Asp Val Asp Pro Gln Gly Ile Tyr Val  
 565 570 575  
 Ile Ser Ala Pro Ser Ile Tyr Ala Arg Glu Val Ala Thr Pro Leu Phe  
 580 585 590  
 Pro Pro Leu His Thr Gly Arg Ala Gly Gln Arg Gln His Leu Leu Phe  
 595 600 605  
 Pro Tyr Pro Ser Ser Ile Leu Ser Val Lys  
 610 615

<210> 2  
 <211> 585  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

5

<400> 2

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

ES 2 674 420 T3

Trp Thr Gly Pro Leu Cys Thr Val Pro Val Ser Thr Ser Ser Cys Leu  
 245 250 255  
 Asn Ser Arg Val Pro Gly Pro Ala Ser Thr Gly Cys Leu Leu Pro Gly  
 260 265 270  
 Pro Gly Pro Cys Asp Gly Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Ser Cys Ser  
 275 280 285  
 Glu Thr Ser Gly Ser Phe Glu Cys Ala Cys Pro Arg Gly Phe Tyr Gly  
 290 295 300  
 Leu Arg Cys Glu Val Ser Gly Val Thr Cys Ala Asp Gly Pro Cys Phe  
 305 310 315 320  
 Asn Gly Gly Leu Cys Val Gly Gly Glu Asp Pro Asp Ser Ala Tyr Val  
 325 330 335  
 Cys His Cys Pro Pro Gly Phe Gln Gly Ser Asn Cys Glu Lys Arg Val  
 340 345 350  
 Asp Arg Cys Ser Leu Gln Pro Cys Gln Asn Gly Gly Leu Cys Leu Asp  
 355 360 365  
 Leu Gly His Ala Leu Arg Cys Arg Cys Arg Ala Gly Phe Ala Gly Pro  
 370 375 380  
 Arg Cys Glu His Asp Leu Asp Asp Cys Ala Gly Arg Ala Cys Ala Asn  
 385 390 395 400  
 Gly Gly Thr Cys Val Glu Gly Gly Gly Ser Arg Arg Cys Ser Cys Ala  
 405 410 415  
 Leu Gly Phe Gly Gly Arg Asp Cys Arg Glu Arg Ala Asp Pro Cys Ala  
 420 425 430  
 Ser Arg Pro Cys Ala His Gly Gly Arg Cys Tyr Ala His Phe Ser Gly  
 435 440 445  
 Leu Val Cys Ala Cys Ala Pro Gly Tyr Met Gly Val Arg Cys Glu Phe  
 450 455 460  
 Ala Val Arg Pro Asp Gly Ala Asp Ala Val Pro Ala Ala Pro Arg Gly  
 465 470 475 480  
 Leu Arg Gln Ala Asp Pro Gln Arg Phe Leu Leu Pro Pro Ala Leu Gly  
 485 490 495  
 Leu Leu Val Ala Ala Gly Leu Ala Gly Ala Ala Leu Leu Val Ile His  
 500 505 510  
 Val Arg Arg Arg Gly Pro Gly Gln Asp Thr Gly Thr Arg Leu Leu Ser  
 515 520 525  
 Gly Thr Arg Glu Pro Ser Val His Thr Leu Pro Asp Ala Leu Asn Asn  
 530 535 540  
 Leu Arg Leu Gln Asp Gly Ala Gly Asp Gly Pro Ser Ser Ser Ala Asp  
 545 550 555 560  
 Trp Asn His Pro Glu Asp Gly Asp Ser Arg Ser Ile Tyr Val Ile Pro  
 565 570 575  
 Ala Pro Ser Ile Tyr Ala Arg Glu Ala  
 580 585

<210> 3  
 <211> 723  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 3

ES 2 674 420 T3

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

ES 2 674 420 T3

Gly Phe Thr Trp Pro Gly Thr Phe Ser Leu Ile Ile Glu Ala Leu His  
 115 120 125  
 Thr Asp Ser Pro Asp Asp Leu Ala Thr Glu Asn Pro Glu Arg Leu Ile  
 130 135 140  
 Ser Arg Leu Ala Thr Gln Arg His Leu Thr Val Gly Glu Glu Trp Ser  
 145 150 155  
 Gln Asp Leu His Ser Ser Gly Arg Thr Asp Leu Lys Tyr Ser Tyr Arg  
 165 170 175  
 Phe Val Cys Asp Glu His Tyr Tyr Gly Glu Gly Cys Ser Val Phe Cys  
 180 185 190  
 Arg Pro Arg Asp Asp Ala Phe Gly His Phe Thr Cys Gly Glu Arg Gly  
 195 200 205  
 Glu Lys Val Cys Asn Pro Gly Trp Lys Gly Pro Tyr Cys Thr Glu Pro  
 210 215 220  
 Ile Cys Leu Pro Gly Cys Asp Glu Gln His Gly Phe Cys Asp Lys Pro  
 225 230 235 240  
 Gly Glu Cys Lys Cys Arg Val Gly Trp Gln Gly Arg Tyr Cys Asp Glu  
 245 250 255  
 Cys Ile Arg Tyr Pro Gly Cys Leu His Gly Thr Cys Gln Gln Pro Trp  
 260 265 270  
 Gln Cys Asn Cys Gln Glu Gly Trp Gly Gly Leu Phe Cys Asn Gln Asp  
 275 280 285  
 Leu Asn Tyr Cys Thr His His Lys Pro Cys Lys Asn Gly Ala Thr Cys  
 290 295 300  
 Thr Asn Thr Gly Gln Gly Ser Tyr Thr Cys Ser Cys Arg Pro Gly Tyr  
 305 310 315 320  
 Thr Gly Ala Thr Cys Glu Leu Gly Ile Asp Glu Cys Asp Pro Ser Pro  
 325 330 335  
 Cys Lys Asn Gly Gly Ser Cys Thr Asp Leu Glu Asn Ser Tyr Ser Cys  
 340 345 350  
 Thr Cys Pro Pro Gly Phe Tyr Gly Lys Ile Cys Glu Leu Ser Ala Met  
 355 360 365  
 Thr Cys Ala Asp Gly Pro Cys Phe Asn Gly Gly Arg Cys Ser Asp Ser  
 370 375 380  
 Pro Asp Gly Gly Tyr Ser Cys Arg Cys Pro Val Gly Tyr Ser Gly Phe  
 385 390 395 400  
 Asn Cys Glu Lys Lys Ile Asp Tyr Cys Ser Ser Ser Pro Cys Ser Asn  
 405 410 415  
 Gly Ala Lys Cys Val Asp Leu Gly Asp Ala Tyr Leu Cys Arg Cys Gln  
 420 425 430  
 Ala Gly Phe Ser Gly Arg His Cys Asp Asp Asn Val Asp Asp Cys Ala  
 435 440 445  
 Ser Ser Pro Cys Ala Asn Gly Gly Thr Cys Arg Asp Gly Val Asn Asp  
 450 455 460  
 Phe Ser Cys Thr Cys Pro Pro Gly Tyr Thr Gly Arg Asn Cys Ser Ala  
 465 470 475 480  
 Pro Val Ser Arg Cys Glu His Ala Pro Cys His Asn Gly Ala Thr Cys  
 485 490 495  
 His Glu Arg Gly His Arg Tyr Val Cys Glu Cys Ala Arg Gly Tyr Gly  
 500 505 510  
 Gly Pro Asn Cys Gln Phe Leu Leu Pro Glu Leu Pro Pro Gly Pro Ala  
 515 520 525  
 Val Val Asp Leu Thr Glu Lys Leu Glu Gly Gln Gly Gly Pro Phe Pro  
 530 535 540  
 Trp Val Ala Val Cys Ala Gly Val Ile Leu Val Leu Met Leu Leu Leu  
 545 550 555 560  
 Gly Cys Ala Ala Val Val Val Cys Val Arg Leu Arg Leu Gln Lys His  
 565 570 575  
 Arg Pro Pro Ala Asp Pro Cys Arg Gly Glu Thr Glu Thr Met Asn Asn  
 580 585 590  
 Leu Ala Asn Cys Gln Arg Glu Lys Asp Ile Ser Val Ser Ile Ile Gly  
 595 600 605  
 Ala Thr Gln Ile Lys Asn Thr Asn Lys Lys Ala Asp Phe His Gly Asp

ES 2 674 420 T3

	610					615						620			
His	Ser	Ala	Asp	Lys	Asn	Gly	Phe	Lys	Ala	Arg	Tyr	Pro	Ala	Val	Asp
625					630					635					640
Tyr	Asn	Leu	Val	Gln	Asp	Leu	Lys	Gly	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Arg	Asp
				645					650					655	
Ala	His	Ser	Lys	Arg	Asp	Thr	Lys	Cys	Gln	Pro	Gln	Gly	Ser	Ser	Gly
			660					665					670		
Glu	Glu	Lys	Gly	Thr	Pro	Thr	Thr	Leu	Arg	Gly	Gly	Glu	Ala	Ser	Glu
		675					680					685			
Arg	Lys	Arg	Pro	Asp	Ser	Gly	Cys	Ser	Thr	Ser	Lys	Asp	Thr	Lys	Tyr
	690					695					700				
Gln	Ser	Val	Tyr	Val	Ile	Ser	Glu	Glu	Lys	Asp	Glu	Cys	Val	Ile	Ala
705					710					715					720
Thr	Glu	Val													

<210> 4  
 <211> 2555  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 4

ES 2 674 420 T3

Met Pro Pro Leu Leu Ala Pro Leu Leu Cys Leu Ala Leu Leu Pro Ala  
 1 5 10 15  
 Leu Ala Ala Arg Gly Pro Arg Cys Ser Gln Pro Gly Glu Thr Cys Leu  
 20 25 30  
 Asn Gly Gly Lys Cys Glu Ala Ala Asn Gly Thr Glu Ala Cys Val Cys  
 35 40 45  
 Gly Gly Ala Phe Val Gly Pro Arg Cys Gln Asp Pro Asn Pro Cys Leu  
 50 55 60  
 Ser Thr Pro Cys Lys Asn Ala Gly Thr Cys His Val Val Asp Arg Arg  
 65 70 75 80  
 Gly Val Ala Asp Tyr Ala Cys Ser Cys Ala Leu Gly Phe Ser Gly Pro  
 85 90 95  
 Leu Cys Leu Thr Pro Leu Asp Asn Ala Cys Leu Thr Asn Pro Cys Arg  
 100 105 110  
 Asn Gly Gly Thr Cys Asp Leu Leu Thr Leu Thr Glu Tyr Lys Cys Arg  
 115 120 125  
 Cys Pro Pro Gly Trp Ser Gly Lys Ser Cys Gln Gln Ala Asp Pro Cys  
 130 135 140  
 Ala Ser Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Gln Cys Leu Pro Phe Glu Ala  
 145 150 155 160  
 Ser Tyr Ile Cys His Cys Pro Pro Ser Phe His Gly Pro Thr Cys Arg  
 165 170 175  
 Gln Asp Val Asn Glu Cys Gly Gln Lys Pro Gly Leu Cys Arg His Gly  
 180 185 190  
 Gly Thr Cys His Asn Glu Val Gly Ser Tyr Arg Cys Val Cys Arg Ala  
 195 200 205  
 Thr His Thr Gly Pro Asn Cys Glu Arg Pro Tyr Val Pro Cys Ser Pro  
 210 215 220  
 Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys Arg Pro Thr Gly Asp Val Thr  
 225 230 235 240  
 His Glu Cys Ala Cys Leu Pro Gly Phe Thr Gly Gln Asn Cys Glu Glu  
 245 250 255  
 Asn Ile Asp Asp Cys Pro Gly Asn Asn Cys Lys Asn Gly Gly Ala Cys  
 260 265 270  
 Val Asp Gly Val Asn Thr Tyr Asn Cys Arg Cys Pro Pro Glu Trp Thr  
 275 280 285  
 Gly Gln Tyr Cys Thr Glu Asp Val Asp Glu Cys Gln Leu Met Pro Asn  
 290 295 300  
 Ala Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys His Asn Thr His Gly Gly Tyr Asn  
 305 310 315 320  
 Cys Val Cys Val Asn Gly Trp Thr Gly Glu Asp Cys Ser Glu Asn Ile  
 325 330 335  
 Asp Asp Cys Ala Ser Ala Ala Cys Phe His Gly Ala Thr Cys His Asp



Asp Tyr Glu Ser Phe Ser Cys Val Cys Pro Thr Gly Trp Gln Gly Gln  
 850 855 860  
 Thr Cys Glu Val Asp Ile Asn Glu Cys Val Leu Ser Pro Cys Arg His  
 865 870 875  
 Gly Ala Ser Cys Gln Asn Thr His Gly Gly Tyr Arg Cys His Cys Gln  
 885 890 895  
 Ala Gly Tyr Ser Gly Arg Asn Cys Glu Thr Asp Ile Asp Asp Cys Arg  
 900 905 910  
 Pro Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Ser Cys Thr Asp Gly Ile Asn Thr  
 915 920 925  
 Ala Phe Cys Asp Cys Leu Pro Gly Phe Arg Gly Thr Phe Cys Glu Glu  
 930 935 940  
 Asp Ile Asn Glu Cys Ala Ser Asp Pro Cys Arg Asn Gly Ala Asn Cys  
 945 950 955 960  
 Thr Asp Cys Val Asp Ser Tyr Thr Cys Thr Cys Pro Ala Gly Phe Ser  
 965 970 975  
 Gly Ile His Cys Glu Asn Asn Thr Pro Asp Cys Thr Glu Ser Ser Cys  
 980 985 990  
 Phe Asn Gly Gly Thr Cys Val Asp Gly Ile Asn Ser Phe Thr Cys Le  
 995 1000 1005  
 Cys Pro Pro Gly Phe Thr Gly Ser Tyr Cys Gln His Asp Val Asn  
 1010 1015 1020  
 Glu Cys Asp Ser Gln Pro Cys Leu His Gly Gly Thr Cys Gln Asp  
 1025 1030 1035  
 Gly Cys Gly Ser Tyr Arg Cys Thr Cys Pro Gln Gly Tyr Thr Gly  
 1040 1045 1050  
 Pro Asn Cys Gln Asn Leu Val His Trp Cys Asp Ser Ser Pro Cys  
 1055 1060 1065  
 Lys Asn Gly Gly Lys Cys Trp Gln Thr His Thr Gln Tyr Arg Cys  
 1070 1075 1080  
 Glu Cys Pro Ser Gly Trp Thr Gly Leu Tyr Cys Asp Val Pro Ser  
 1085 1090 1095  
 Val Ser Cys Glu Val Ala Ala Gln Arg Gln Gly Val Asp Val Ala  
 1100 1105 1110  
 Arg Leu Cys Gln His Gly Gly Leu Cys Val Asp Ala Gly Asn Thr  
 1115 1120 1125  
 His His Cys Arg Cys Gln Ala Gly Tyr Thr Gly Ser Tyr Cys Glu  
 1130 1135 1140  
 Asp Leu Val Asp Glu Cys Ser Pro Ser Pro Cys Gln Asn Gly Ala  
 1145 1150 1155  
 Thr Cys Thr Asp Tyr Leu Gly Gly Tyr Ser Cys Lys Cys Val Ala  
 1160 1165 1170  
 Gly Tyr His Gly Val Asn Cys Ser Glu Glu Ile Asp Glu Cys Leu  
 1175 1180 1185  
 Ser His Pro Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys Leu Asp Leu Pro Asn  
 1190 1195 1200  
 Thr Tyr Lys Cys Ser Cys Pro Arg Gly Thr Gln Gly Val His Cys  
 1205 1210 1215  
 Glu Ile Asn Val Asp Asp Cys Asn Pro Pro Val Asp Pro Val Ser  
 1220 1225 1230  
 Arg Ser Pro Lys Cys Phe Asn Asn Gly Thr Cys Val Asp Gln Val  
 1235 1240 1245  
 Gly Gly Tyr Ser Cys Thr Cys Pro Pro Gly Phe Val Gly Glu Arg  
 1250 1255 1260  
 Cys Glu Gly Asp Val Asn Glu Cys Leu Ser Asn Pro Cys Asp Ala  
 1265 1270 1275  
 Arg Gly Thr Gln Asn Cys Val Gln Arg Val Asn Asp Phe His Cys  
 1280 1285 1290  
 Glu Cys Arg Ala Gly His Thr Gly Arg Arg Cys Glu Ser Val Ile  
 1295 1300 1305  
 Asn Gly Cys Lys Gly Lys Pro Cys Lys Asn Gly Gly Thr Cys Ala  
 1310 1315 1320  
 Val Ala Ser Asn Thr Ala Arg Gly Phe Ile Cys Lys Cys Pro Ala

1325						1330						1335							
Gly	Phe	Glu	Gly	Ala	Thr	Cys	Glu	Asn	Asp	Ala	Arg	Thr	Cys	Gly					
1340						1345					1350								
Ser	Leu	Arg	Cys	Leu	Asn	Gly	Gly	Thr	Cys	Ile	Ser	Gly	Pro	Arg					
1355						1360					1365								
Ser	Pro	Thr	Cys	Leu	Cys	Leu	Gly	Pro	Phe	Thr	Gly	Pro	Glu	Cys					
1370						1375					1380								
Gln	Phe	Pro	Ala	Ser	Ser	Pro	Cys	Leu	Gly	Gly	Asn	Pro	Cys	Tyr					
1385						1390					1395								
Asn	Gln	Gly	Thr	Cys	Glu	Pro	Thr	Ser	Glu	Ser	Pro	Phe	Tyr	Arg					
1400						1405					1410								
Cys	Leu	Cys	Pro	Ala	Lys	Phe	Asn	Gly	Leu	Leu	Cys	His	Ile	Leu					
1415						1420					1425								
Asp	Tyr	Ser	Phe	Gly	Gly	Gly	Ala	Gly	Arg	Asp	Ile	Pro	Pro	Pro					
1430						1435					1440								
Leu	Ile	Glu	Glu	Ala	Cys	Glu	Leu	Pro	Glu	Cys	Gln	Glu	Asp	Ala					
1445						1450					1455								
Gly	Asn	Lys	Val	Cys	Ser	Leu	Gln	Cys	Asn	Asn	His	Ala	Cys	Gly					
1460						1465					1470								
Trp	Asp	Gly	Gly	Asp	Cys	Ser	Leu	Asn	Phe	Asn	Asp	Pro	Trp	Lys					
1475						1480					1485								
Asn	Cys	Thr	Gln	Ser	Leu	Gln	Cys	Trp	Lys	Tyr	Phe	Ser	Asp	Gly					
1490						1495					1500								
His	Cys	Asp	Ser	Gln	Cys	Asn	Ser	Ala	Gly	Cys	Leu	Phe	Asp	Gly					
1505						1510					1515								
Phe	Asp	Cys	Gln	Arg	Ala	Glu	Gly	Gln	Cys	Asn	Pro	Leu	Tyr	Asp					
1520						1525					1530								
Gln	Tyr	Cys	Lys	Asp	His	Phe	Ser	Asp	Gly	His	Cys	Asp	Gln	Gly					
1535						1540					1545								
Cys	Asn	Ser	Ala	Glu	Cys	Glu	Trp	Asp	Gly	Leu	Asp	Cys	Ala	Glu					
1550						1555					1560								
His	Val	Pro	Glu	Arg	Leu	Ala	Ala	Gly	Thr	Leu	Val	Val	Val	Val					
1565						1570					1575								
Leu	Met	Pro	Pro	Glu	Gln	Leu	Arg	Asn	Ser	Ser	Phe	His	Phe	Leu					
1580						1585					1590								
Arg	Glu	Leu	Ser	Arg	Val	Leu	His	Thr	Asn	Val	Val	Phe	Lys	Arg					
1595						1600					1605								
Asp	Ala	His	Gly	Gln	Gln	Met	Ile	Phe	Pro	Tyr	Tyr	Gly	Arg	Glu					
1610						1615					1620								
Glu	Glu	Leu	Arg	Lys	His	Pro	Ile	Lys	Arg	Ala	Ala	Glu	Gly	Trp					
1625						1630					1635								
Ala	Ala	Pro	Asp	Ala	Leu	Leu	Gly	Gln	Val	Lys	Ala	Ser	Leu	Leu					
1640						1645					1650								
Pro	Gly	Gly	Ser	Glu	Gly	Gly	Arg	Arg	Arg	Arg	Glu	Leu	Asp	Pro					
1655						1660					1665								
Met	Asp	Val	Arg	Gly	Ser	Ile	Val	Tyr	Leu	Glu	Ile	Asp	Asn	Arg					
1670						1675					1680								
Gln	Cys	Val	Gln	Ala	Ser	Ser	Gln	Cys	Phe	Gln	Ser	Ala	Thr	Asp					
1685						1690					1695								
Val	Ala	Ala	Phe	Leu	Gly	Ala	Leu	Ala	Ser	Leu	Gly	Ser	Leu	Asn					
1700						1705					1710								
Ile	Pro	Tyr	Lys	Ile	Glu	Ala	Val	Gln	Ser	Glu	Thr	Val	Glu	Pro					
1715						1720					1725								
Pro	Pro	Pro	Ala	Gln	Leu	His	Phe	Met	Tyr	Val	Ala	Ala	Ala	Ala					
1730						1735					1740								
Phe	Val	Leu	Leu	Phe	Phe	Val	Gly	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Ser	Arg					
1745						1750					1755								
Lys	Arg	Arg	Arg	Gln	His	Gly	Gln	Leu	Trp	Phe	Pro	Glu	Gly	Phe					
1760						1765					1770								
Lys	Val	Ser	Glu	Ala	Ser	Lys	Lys	Lys	Arg	Arg	Glu	Pro	Leu	Gly					
1775						1780					1785								
Glu	Asp	Ser	Val	Gly	Leu	Lys	Pro	Leu	Lys	Asn	Ala	Ser	Asp	Gly					
1790						1795					1800								

Ala	Leu	Met	Asp	Asp	Asn	Gln	Asn	Glu	Trp	Gly	Asp	Glu	Asp	Leu
	1805					1810					1815			
Glu	Thr	Lys	Lys	Phe	Arg	Phe	Glu	Glu	Pro	Val	Val	Leu	Pro	Asp
	1820					1825					1830			
Leu	Asp	Asp	Gln	Thr	Asp	His	Arg	Gln	Trp	Thr	Gln	Gln	His	Leu
	1835					1840					1845			
Asp	Ala	Ala	Asp	Leu	Arg	Met	Ser	Ala	Met	Ala	Pro	Thr	Pro	Pro
	1850					1855					1860			
Gln	Gly	Glu	Val	Asp	Ala	Asp	Cys	Met	Asp	Val	Asn	Val	Arg	Gly
	1865					1870					1875			
Pro	Asp	Gly	Phe	Thr	Pro	Leu	Met	Ile	Ala	Ser	Cys	Ser	Gly	Gly
	1880					1885					1890			
Gly	Leu	Glu	Thr	Gly	Asn	Ser	Glu	Glu	Glu	Glu	Asp	Ala	Pro	Ala
	1895					1900					1905			
Val	Ile	Ser	Asp	Phe	Ile	Tyr	Gln	Gly	Ala	Ser	Leu	His	Asn	Gln
	1910					1915					1920			
Thr	Asp	Arg	Thr	Gly	Glu	Thr	Ala	Leu	His	Leu	Ala	Ala	Arg	Tyr
	1925					1930					1935			
Ser	Arg	Ser	Asp	Ala	Ala	Lys	Arg	Leu	Leu	Glu	Ala	Ser	Ala	Asp
	1940					1945					1950			
Ala	Asn	Ile	Gln	Asp	Asn	Met	Gly	Arg	Thr	Pro	Leu	His	Ala	Ala
	1955					1960					1965			
Val	Ser	Ala	Asp	Ala	Gln	Gly	Val	Phe	Gln	Ile	Leu	Ile	Arg	Asn
	1970					1975					1980			
Arg	Ala	Thr	Asp	Leu	Asp	Ala	Arg	Met	His	Asp	Gly	Thr	Thr	Pro
	1985					1990					1995			
Leu	Ile	Leu	Ala	Ala	Arg	Leu	Ala	Val	Glu	Gly	Met	Leu	Glu	Asp
	2000					2005					2010			
Leu	Ile	Asn	Ser	His	Ala	Asp	Val	Asn	Ala	Val	Asp	Asp	Leu	Gly
	2015					2020					2025			
Lys	Ser	Ala	Leu	His	Trp	Ala	Ala	Ala	Val	Asn	Asn	Val	Asp	Ala
	2030					2035					2040			
Ala	Val	Val	Leu	Leu	Lys	Asn	Gly	Ala	Asn	Lys	Asp	Met	Gln	Asn
	2045					2050					2055			
Asn	Arg	Glu	Glu	Thr	Pro	Leu	Phe	Leu	Ala	Ala	Arg	Glu	Gly	Ser
	2060					2065					2070			
Tyr	Glu	Thr	Ala	Lys	Val	Leu	Leu	Asp	His	Phe	Ala	Asn	Arg	Asp
	2075					2080					2085			
Ile	Thr	Asp	His	Met	Asp	Arg	Leu	Pro	Arg	Asp	Ile	Ala	Gln	Glu
	2090					2095					2100			
Arg	Met	His	His	Asp	Ile	Val	Arg	Leu	Leu	Asp	Glu	Tyr	Asn	Leu
	2105					2110					2115			
Val	Arg	Ser	Pro	Gln	Leu	His	Gly	Ala	Pro	Leu	Gly	Gly	Thr	Pro
	2120					2125					2130			
Thr	Leu	Ser	Pro	Pro	Leu	Cys	Ser	Pro	Asn	Gly	Tyr	Leu	Gly	Ser
	2135					2140					2145			
Leu	Lys	Pro	Gly	Val	Gln	Gly	Lys	Lys	Val	Arg	Lys	Pro	Ser	Ser
	2150					2155					2160			
Lys	Gly	Leu	Ala	Cys	Gly	Ser	Lys	Glu	Ala	Lys	Asp	Leu	Lys	Ala
	2165					2170					2175			
Arg	Arg	Lys	Lys	Ser	Gln	Asp	Gly	Lys	Gly	Cys	Leu	Leu	Asp	Ser
	2180					2185					2190			
Ser	Gly	Met	Leu	Ser	Pro	Val	Asp	Ser	Leu	Glu	Ser	Pro	His	Gly
	2195					2200					2205			
Tyr	Leu	Ser	Asp	Val	Ala	Ser	Pro	Pro	Leu	Leu	Pro	Ser	Pro	Phe
	2210					2215					2220			
Gln	Gln	Ser	Pro	Ser	Val	Pro	Leu	Asn	His	Leu	Pro	Gly	Met	Pro
	2225					2230					2235			
Asp	Thr	His	Leu	Gly	Ile	Gly	His	Leu	Asn	Val	Ala	Ala	Lys	Pro
	2240					2245					2250			
Glu	Met	Ala	Ala	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Arg	Leu	Ala	Phe	Glu	Thr
	2255					2260					2265			
Gly	Pro	Pro	Arg	Leu	Ser	His	Leu	Pro	Val	Ala	Ser	Gly	Thr	Ser

2270	Thr Val	Leu Gly Ser Ser Ser	2275	Gly Gly Ala Leu Asn	2280	Phe Thr Val
2285	Gly Gly	Ser Thr Ser Leu Asn	2290	Gly Gln Cys Glu Trp	2295	Leu Ser Arg
2300	Leu Gln	Ser Gly Met Val Pro	2305	Asn Gln Tyr Asn Pro	2310	Leu Arg Gly
2315	Ser Val	Ala Pro Gly Pro Leu	2320	Ser Thr Gln Ala Pro	2325	Ser Leu Gln
2330	His Gly	Met Val Gly Pro Leu	2335	His Ser Ser Leu Ala	2340	Ala Ser Ala
2345	Leu Ser	Gln Met Met Ser Tyr	2350	Gln Gly Leu Pro Ser	2355	Thr Arg Leu
2360	Ala Thr	Gln Pro His Leu Val	2365	Gln Thr Gln Gln Val	2370	Gln Pro Gln
2375	Asn Leu	Gln Met Gln Gln Gln	2380	Asn Leu Gln Pro Ala	2385	Asn Ile Gln
2390	Gln Gln	Gln Ser Leu Gln Pro	2395	Pro Pro Pro Pro Pro	2400	Gln Pro His
2405	Leu Gly	Val Ser Ser Ala Ala	2410	Ser Gly His Leu Gly	2415	Arg Ser Phe
2420	Leu Ser	Gly Glu Pro Ser Gln	2425	Ala Asp Val Gln Pro	2430	Leu Gly Pro
2435	Ser Ser	Leu Ala Val His Thr	2440	Ile Leu Pro Gln Glu	2445	Ser Pro Ala
2450	Leu Pro	Thr Ser Leu Pro Ser	2455	Ser Leu Val Pro Pro	2460	Val Thr Ala
2465	Ala Gln	Phe Leu Thr Pro Pro	2470	Ser Gln His Ser Tyr	2475	Ser Ser Pro
2480	Val Asp	Asn Thr Pro Ser His	2485	Gln Leu Gln Val Pro	2490	Glu His Pro
2495	Phe Leu	Thr Pro Ser Pro Glu	2500	Ser Pro Asp Gln Trp	2505	Ser Ser Ser
2510	Ser Pro	His Ser Asn Val Ser	2515	Asp Trp Ser Glu Gly	2520	Val Ser Ser
2525	Pro Pro	Thr Ser Met Gln Ser	2530	Gln Ile Ala Arg Ile	2535	Pro Glu Ala
2540	Phe Lys		2545		2550	
2555						

- 5 <210> 5
- <211> 724
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> secuencia quimérica humana-ratón
- <400> 5

ES 2 674 420 T3

Met Val Ser Pro Arg Met Ser Gly Leu Leu Ser Gln Thr Val Ile Leu  
1 5 10 15  
Ala Leu Ile Phe Leu Pro Gln Thr Arg Pro Ala Gly Val Phe Glu Leu  
20 25 30  
Gln Ile His Ser Phe Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Ala Pro Arg Ser  
35 40 45  
Pro Cys Ser Ala Arg Leu Pro Cys Arg Leu Phe Phe Arg Val Cys Leu  
50 55 60  
Lys Pro Gly Leu Ser Glu Glu Ala Ala Glu Ser Pro Cys Ala Leu Gly  
65 70 75 80  
Ala Ala Leu Ser Ala Arg Gly Pro Val Tyr Thr Glu Gln Pro Gly Ala  
85 90 95  
Pro Ala Pro Asp Leu Pro Leu Pro Asp Gly Leu Leu Gln Val Pro Phe  
100 105 110  
Arg Asp Ala Trp Pro Gly Thr Phe Ser Phe Ile Ile Glu Thr Trp Arg  
115 120 125  
Glu Glu Leu Gly Asp Gln Ile Gly Gly Pro Ala Trp Ser Leu Leu Ala

ES 2 674 420 T3

130						135								140					
Arg	Val	Ala	Gly	Arg	Arg	Arg	Leu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Trp	Ala	Arg				
145						150													160
Asp	Ile	Gln	Arg	Ala	Gly	Ala	Trp	Glu	Leu	Arg	Phe	Ser	Tyr	Arg	Ala				
				165						170									175
Arg	Cys	Glu	Pro	Pro	Ala	Val	Gly	Thr	Ala	Cys	Thr	Arg	Leu	Cys	Arg				
			180						185										190
Pro	Arg	Ser	Ala	Pro	Ser	Arg	Cys	Gly	Pro	Gly	Leu	Arg	Pro	Cys	Ala				
		195					200												205
Pro	Leu	Glu	Asp	Glu	Cys	Glu	Ala	Pro	Leu	Val	Cys	Arg	Ala	Gly	Cys				
	210						215												220
Ser	Pro	Glu	His	Gly	Phe	Cys	Glu	Gln	Pro	Gly	Glu	Cys	Arg	Cys	Leu				
225					230						235								240
Glu	Gly	Trp	Thr	Gly	Pro	Leu	Cys	Thr	Val	Pro	Val	Ser	Thr	Ser	Ser				
				245						250									255
Cys	Leu	Ser	Pro	Arg	Gly	Pro	Ser	Ser	Ala	Thr	Thr	Gly	Cys	Leu	Val				
			260						265										270
Pro	Gly	Pro	Gly	Pro	Cys	Asp	Gly	Asn	Pro	Cys	Ala	Asn	Gly	Gly	Ser				
		275					280						285						
Cys	Ser	Glu	Thr	Pro	Arg	Ser	Phe	Glu	Cys	Thr	Cys	Pro	Arg	Gly	Phe				
	290					295					300								
Tyr	Gly	Leu	Arg	Cys	Glu	Val	Ser	Gly	Val	Thr	Cys	Ala	Asp	Gly	Pro				
305					310						315								320
Cys	Phe	Asn	Gly	Gly	Leu	Cys	Val	Gly	Gly	Ala	Asp	Pro	Asp	Ser	Ala				
			325							330									335
Tyr	Ile	Cys	His	Cys	Pro	Pro	Gly	Phe	Gln	Gly	Ser	Asn	Cys	Glu	Lys				
			340						345					350					
Arg	Val	Asp	Arg	Cys	Ser	Leu	Gln	Pro	Cys	Arg	Asn	Gly	Gly	Leu	Cys				
		355					360						365						
Leu	Asp	Leu	Gly	His	Ala	Leu	Arg	Cys	Arg	Cys	Arg	Ala	Gly	Phe	Ala				
	370					375						380							
Gly	Pro	Arg	Cys	Glu	His	Asp	Leu	Asp	Asp	Cys	Ala	Gly	Arg	Ala	Cys				
385					390						395								400
Ala	Asn	Gly	Gly	Thr	Cys	Val	Glu	Gly	Gly	Gly	Ala	His	Arg	Cys	Ser				
				405						410									415
Cys	Ala	Leu	Gly	Phe	Gly	Gly	Arg	Asp	Cys	Arg	Glu	Arg	Ala	Asp	Pro				
			420					425					430						
Cys	Ala	Ala	Arg	Pro	Cys	Ala	His	Gly	Gly	Arg	Cys	Tyr	Ala	His	Phe				
		435					440						445						
Ser	Gly	Leu	Val	Cys	Ala	Cys	Ala	Pro	Gly	Tyr	Met	Gly	Ala	Arg	Cys				
	450					455					460								
Glu	Phe	Pro	Val	His	Pro	Asp	Gly	Ala	Ser	Ala	Leu	Pro	Ala	Ala	Pro				
465					470					475									480
Pro	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly	Asp	Pro	Gln	Arg	Tyr	Leu	Ala	Arg	Gly	Pro				
				485						490									495
Thr	Ile	Lys	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Lys	Cys	Pro	Ala	Pro	Asn	Leu	Leu				
			500						505					510					
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Ile	Lys	Asp	Val	Leu				
		515					520						525						
Met	Ile	Ser	Leu	Ser	Pro	Ile	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser				
	530					535							540						
Glu	Asp	Asp	Pro	Asp	Val	Gln	Ile	Ser	Trp	Phe	Val	Asn	Asn	Val	Glu				
545					550					555									560
Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln	Thr	His	Arg	Glu	Asp	Tyr	Asn	Ser	Thr				
				565						570									575
Leu	Arg	Val	Val	Ser	Ala	Leu	Pro	Ile	Gln	His	Gln	Asp	Trp	Met	Ser				
			580						585					590					
Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys	Lys	Val	Asn	Asn	Lys	Asp	Leu	Pro	Ala	Pro				
		595					600						605						
Ile	Glu	Arg	Thr	Ile	Ser	Lys	Pro	Lys	Gly	Ser	Val	Arg	Ala	Pro	Gln				
	610					615							620						
Val	Tyr	Val	Leu	Pro	Pro	Pro	Glu	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Lys	Gln	Val				
625					630						635								640

ES 2 674 420 T3

Thr	Leu	Thr	Cys	Met	Val	Thr	Asp	Phe	Met	Pro	Glu	Asp	Ile	Tyr	Val
				645					650					655	
Glu	Trp	Thr	Asn	Asn	Gly	Lys	Thr	Glu	Leu	Asn	Tyr	Lys	Asn	Thr	Glu
			660					665					670		
Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Tyr	Phe	Met	Tyr	Ser	Lys	Leu	Arg
		675					680					685			
Val	Glu	Lys	Lys	Asn	Trp	Val	Glu	Arg	Asn	Ser	Tyr	Ser	Cys	Ser	Val
	690					695					700				
Val	His	Glu	Gly	Leu	His	Asn	His	His	Thr	Thr	Lys	Ser	Phe	Ser	Arg
705					710					715					720
Thr	Pro	Gly	Lys												

<210> 6

<211> 575

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> secuencia quimérica humana-ratón

<400> 6

Met	Val	Leu	Ala	Ser	Ser	Thr	Thr	Ser	Ile	His	Thr	Met	Leu	Leu	Leu
1				5					10					15	
Leu	Leu	Met	Leu	Ala	Gln	Pro	Ala	Met	Ala	Ala	Arg	Cys	Glu	Pro	Pro
			20					25					30		
Ala	Val	Gly	Thr	Ala	Cys	Thr	Arg	Leu	Cys	Arg	Pro	Arg	Ser	Ala	Pro
		35					40					45			
Ser	Arg	Cys	Gly	Pro	Gly	Leu	Arg	Pro	Cys	Ala	Pro	Leu	Glu	Asp	Glu
	50					55					60				
Cys	Glu	Ala	Pro	Leu	Val	Cys	Arg	Ala	Gly	Cys	Ser	Pro	Glu	His	Gly
65					70					75					80
Phe	Cys	Glu	Gln	Pro	Gly	Glu	Cys	Arg	Cys	Leu	Glu	Gly	Trp	Thr	Gly
			85						90					95	
Pro	Leu	Cys	Thr	Val	Pro	Val	Ser	Thr	Ser	Ser	Cys	Leu	Ser	Pro	Arg
			100					105					110		
Gly	Pro	Ser	Ser	Ala	Thr	Thr	Gly	Cys	Leu	Val	Pro	Gly	Pro	Gly	Pro
		115					120					125			
Cys	Asp	Gly	Asn	Pro	Cys	Ala	Asn	Gly	Gly	Ser	Cys	Ser	Glu	Thr	Pro
	130					135					140				
Arg	Ser	Phe	Glu	Cys	Thr	Cys	Pro	Arg	Gly	Phe	Tyr	Gly	Leu	Arg	Cys
145					150					155					160
Glu	Val	Ser	Gly	Val	Thr	Cys	Ala	Asp	Gly	Pro	Cys	Phe	Asn	Gly	Gly
				165					170					175	
Leu	Cys	Val	Gly	Gly	Ala	Asp	Pro	Asp	Ser	Ala	Tyr	Ile	Cys	His	Cys
			180					185					190		
Pro	Pro	Gly	Phe	Gln	Gly	Ser	Asn	Cys	Glu	Lys	Arg	Val	Asp	Arg	Cys
		195					200					205			
Ser	Leu	Gln	Pro	Cys	Arg	Asn	Gly	Gly	Leu	Cys	Leu	Asp	Leu	Gly	His
	210					215					220				
Ala	Leu	Arg	Cys	Arg	Cys	Arg	Ala	Gly	Phe	Ala	Gly	Pro	Arg	Cys	Glu
225					230					235					240
His	Asp	Leu	Asp	Asp	Cys	Ala	Gly	Arg	Ala	Cys	Ala	Asn	Gly	Gly	Thr
				245					250					255	
Cys	Val	Glu	Gly	Gly	Gly	Ala	His	Arg	Cys	Ser	Cys	Ala	Leu	Gly	Phe
			260						265				270		
Gly	Gly	Arg	Asp	Cys	Arg	Glu	Arg	Ala	Asp	Pro	Cys	Ala	Ala	Arg	Pro
		275						280				285			
Cys	Ala	His	Gly	Gly	Arg	Cys	Tyr	Ala	His	Phe	Ser	Gly	Leu	Val	Cys
	290					295					300				
Ala	Cys	Ala	Pro	Gly	Tyr	Met	Gly	Ala	Arg	Cys	Glu	Phe	Pro	Val	His
305					310					315					320
Pro	Asp	Gly	Ala	Ser	Ala	Leu	Pro	Ala	Ala	Pro	Pro	Gly	Leu	Arg	Pro
				325					330					335	
Gly	Asp	Pro	Gln	Arg	Tyr	Leu	Ala	Arg	Gly	Pro	Thr	Ile	Lys	Pro	Cys
			340					345					350		

ES 2 674 420 T3

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

<210> 7

<211> 535

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia quimérica humana-ratón

10

<400> 7

ES 2 674 420 T3

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

Arg Cys Ser Cys Ala Leu Gly Phe Gly Gly Arg Asp Cys Arg Glu Arg  
 225 230 235 240  
 Ala Asp Pro Cys Ala Ala Arg Pro Cys Ala His Gly Gly Arg Cys Tyr  
 245 250 255  
 Ala His Phe Ser Gly Leu Val Cys Ala Cys Ala Pro Gly Tyr Met Gly  
 260 265 270  
 Ala Arg Cys Glu Phe Pro Val His Pro Asp Gly Ala Ser Ala Leu Pro  
 275 280 285  
 Ala Ala Pro Pro Gly Leu Arg Pro Gly Asp Pro Gln Arg Tyr Leu Ala  
 290 295 300  
 Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro  
 305 310 315 320  
 Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys  
 325 330 335  
 Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val  
 340 345 350  
 Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn  
 355 360 365  
 Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr  
 370 375 380  
 Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp  
 385 390 395 400  
 Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu  
 405 410 415  
 Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg  
 420 425 430  
 Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys  
 435 440 445  
 Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp  
 450 455 460  
 Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys  
 465 470 475 480  
 Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser  
 485 490 495  
 Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser  
 500 505 510  
 Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser  
 515 520 525  
 Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys  
 530 535

<210> 8  
 <211> 718  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> secuencia quimérica humana-ratón

<400> 8

5

10

ES 2 674 420 T3

Met	Val	Ser	Leu	Gln	Val	Ser	Pro	Leu	Ser	Gln	Thr	Leu	Ile	Leu	Ala
1				5					10					15	
Phe	Leu	Leu	Pro	Gln	Ala	Leu	Pro	Ala	Gly	Val	Phe	Glu	Leu	Gln	Ile
			20					25					30		
His	Ser	Phe	Gly	Pro	Gly	Pro	Gly	Leu	Gly	Thr	Pro	Arg	Ser	Pro	Cys
		35					40					45			
Asn	Ala	Arg	Gly	Pro	Cys	Arg	Leu	Phe	Phe	Arg	Val	Cys	Leu	Lys	Pro
	50					55					60				
Gly	Val	Ser	Gln	Glu	Ala	Thr	Glu	Ser	Leu	Cys	Ala	Leu	Gly	Ala	Ala
65					70					75					80
Leu	Ser	Thr	Ser	Val	Pro	Val	Tyr	Thr	Glu	His	Pro	Gly	Glu	Ser	Ala
				85					90					95	
Ala	Ala	Leu	Pro	Leu	Pro	Asp	Gly	Leu	Val	Arg	Val	Pro	Phe	Arg	Asp
			100					105					110		
Ala	Trp	Pro	Gly	Thr	Phe	Ser	Leu	Val	Ile	Glu	Thr	Trp	Arg	Glu	Gln
		115					120					125			

ES 2 674 420 T3

Leu Gly Glu His Ala Gly Gly Pro Ala Trp Asn Leu Leu Ala Arg Val  
 130 135 140  
 Val Gly Arg Arg Arg Leu Ala Ala Gly Gly Pro Trp Ala Arg Asp Val  
 145 150 155 160  
 Gln Arg Thr Gly Thr Trp Glu Leu His Phe Ser Tyr Arg Ala Arg Cys  
 165 170 175  
 Glu Pro Pro Ala Val Gly Ala Ala Cys Ala Arg Leu Cys Arg Ser Arg  
 180 185 190  
 Ser Ala Pro Ser Arg Cys Gly Pro Gly Leu Arg Pro Cys Thr Pro Phe  
 195 200 205  
 Pro Asp Glu Cys Glu Ala Pro Ser Val Cys Arg Pro Gly Cys Ser Pro  
 210 215 220  
 Glu His Gly Tyr Cys Glu Glu Pro Asp Glu Cys Arg Cys Leu Glu Gly  
 225 230 235 240  
 Trp Thr Gly Pro Leu Cys Thr Val Pro Val Ser Thr Ser Ser Cys Leu  
 245 250 255  
 Asn Ser Arg Val Pro Gly Pro Ala Ser Thr Gly Cys Leu Leu Pro Gly  
 260 265 270  
 Pro Gly Pro Cys Asp Gly Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Ser Cys Ser  
 275 280 285  
 Glu Thr Ser Gly Ser Phe Glu Cys Ala Cys Pro Arg Gly Phe Tyr Gly  
 290 295 300  
 Leu Arg Cys Glu Val Ser Gly Val Thr Cys Ala Asp Gly Pro Cys Phe  
 305 310 315 320  
 Asn Gly Gly Leu Cys Val Gly Gly Glu Asp Pro Asp Ser Ala Tyr Val  
 325 330 335  
 Cys His Cys Pro Pro Gly Phe Gln Gly Ser Asn Cys Glu Lys Arg Val  
 340 345 350  
 Asp Arg Cys Ser Leu Gln Pro Cys Gln Asn Gly Gly Leu Cys Leu Asp  
 355 360 365  
 Leu Gly His Ala Leu Arg Cys Arg Cys Arg Ala Gly Phe Ala Gly Pro  
 370 375 380  
 Arg Cys Glu His Asp Leu Asp Asp Cys Ala Gly Arg Ala Cys Ala Asn  
 385 390 395 400  
 Gly Gly Thr Cys Val Glu Gly Gly Gly Ser Arg Arg Cys Ser Cys Ala  
 405 410 415  
 Leu Gly Phe Gly Gly Arg Asp Cys Arg Glu Arg Ala Asp Pro Cys Ala  
 420 425 430  
 Ser Arg Pro Cys Ala His Gly Gly Arg Cys Tyr Ala His Phe Ser Gly  
 435 440 445  
 Leu Val Cys Ala Cys Ala Pro Gly Tyr Met Gly Val Arg Cys Glu Phe  
 450 455 460  
 Ala Val Arg Pro Asp Gly Ala Asp Ala Val Pro Ala Ala Pro Arg Gly  
 465 470 475 480  
 Leu Arg Gln Ala Asp Pro Gln Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro  
 485 490 495  
 Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 500 505 510  
 Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro  
 515 520 525  
 Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val  
 530 535 540  
 Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr  
 545 550 555 560  
 Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala  
 565 570 575  
 Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys  
 580 585 590  
 Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser  
 595 600 605  
 Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro  
 610 615 620  
 Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val

ES 2 674 420 T3

625					630					635				640	
Thr	Asp	Phe	Met	Pro	Glu	Asp	Ile	Tyr	Val	Glu	Trp	Thr	Asn	Asn	Gly
				645					650					655	
Lys	Thr	Glu	Leu	Asn	Tyr	Lys	Asn	Thr	Glu	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
			660					665					670		
Gly	Ser	Tyr	Phe	Met	Tyr	Ser	Lys	Leu	Arg	Val	Glu	Lys	Lys	Asn	Trp
		675					680					685			
Val	Glu	Arg	Asn	Ser	Tyr	Ser	Cys	Ser	Val	Val	His	Glu	Gly	Leu	His
	690					695					700				
Asn	His	His	Thr	Thr	Lys	Ser	Phe	Ser	Arg	Thr	Pro	Gly	Lys		
705					710					715					

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

5

<400> 9

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Asp	Leu	Val	Arg	Pro	Gly	Thr
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ala	Phe	Thr	Asn	Tyr
			20				25						30		
Leu	Ile	Glu	Trp	Ile	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40					45			
Gly	Val	Met	Asn	Pro	Gly	Ser	Gly	Gly	Thr	His	Tyr	Ser	Glu	Lys	Phe
	50				55						60				
Arg	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Gln	Leu	Ile	Ser	Leu	Thr	Ser	Asp	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Ser	Asp	Tyr	Asp	Tyr	Val	Thr	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly
			100					105						110	
Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser							
		115						120							

10

<210> 10  
 <211> 464  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

15

<400> 10

Met	Glu	Trp	Ser	Gly	Val	Phe	Ile	Phe	Leu	Leu	Ser	Val	Thr	Ala	Gly
1				5					10					15	
Val	His	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Asp	Leu	Val	Arg
			20					25					30		
Pro	Gly	Thr	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ala	Phe
		35					40					45			
Thr	Asn	Tyr	Leu	Ile	Glu	Trp	Ile	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				
Glu	Trp	Ile	Gly	Val	Met	Asn	Pro	Gly	Ser	Gly	Gly	Thr	His	Tyr	Ser
65					70					75					80
Glu	Lys	Phe	Arg	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser
				85					90					95	
Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Leu	Ile	Ser	Leu	Thr	Ser	Asp	Asp	Ser	Ala	Val
			100					105					110		
Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Ser	Asp	Tyr	Asp	Tyr	Val	Thr	Tyr	Ala	Met	Asp
		115					120					125			
Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Thr
	130					135					140				
Pro	Pro	Ser	Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	Pro	Gly	Ser	Ala	Ala	Gln	Thr	Asn
145					150						155				160
Ser	Met	Val	Thr	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
				165					170					175	
Val	Thr	Val	Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser	Leu	Ser	Ser	Gly	Val	His	Thr
			180					185					190		
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Asp	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser	Val
		195					200					205			
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Thr	Trp	Pro	Ser	Glu	Thr	Val	Thr	Cys	Asn	Val
	210					215					220				
Ala	His	Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Ile	Val	Pro	Arg
225					230					235					240
Asp	Cys	Gly	Cys	Lys	Pro	Cys	Ile	Cys	Thr	Val	Pro	Glu	Val	Ser	Ser
				245					250					255	
Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Leu
			260					265					270		
Thr	Pro	Lys	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Ile	Ser	Lys	Asp	Asp	Pro
		275					280					285			
Glu	Val	Gln	Phe	Ser	Trp	Phe	Val	Asp	Asp	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala
	290					295					300				
Gln	Thr	Gln	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Ser	Val
305					310					315					320
Ser	Glu	Leu	Pro	Ile	Met	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Phe
				325					330					335	
Lys	Cys	Arg	Val	Asn	Ser	Ala	Ala	Phe	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr
			340					345					350		
Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Arg	Pro	Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Ile
		355					360					365			
Pro	Pro	Pro	Lys	Glu	Gln	Met	Ala	Lys	Asp	Lys	Val	Ser	Leu	Thr	Cys
		370				375					380				
Met	Ile	Thr	Asp	Phe	Phe	Pro	Glu	Asp	Ile	Thr	Val	Glu	Trp	Gln	Trp
385					390					395					400
Asn	Gly	Gln	Pro	Ala	Glu	Asn	Tyr	Lys	Asn	Thr	Gln	Pro	Ile	Met	Asn
				405					410					415	
Thr	Asn	Gly	Ser	Tyr	Phe	Val	Tyr	Ser	Lys	Leu	Asn	Val	Gln	Lys	Ser
			420					425					430		
Asn	Trp	Glu	Ala	Gly	Asn	Thr	Phe	Thr	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Gly
		435					440					445			
Leu	His	Asn	His	His	Thr	Glu	Lys	Ser	Leu	Ser	His	Ser	Pro	Gly	Lys
		450				455						460			

ES 2 674 420 T3

<210> 11  
 <211> 470  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> cadena pesada del anticuerpo quimérico  
  
 10 <400> 11

```

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

ES 2 674 420 T3

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val  
 195 200 205  
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn  
 210 215 220  
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro  
 225 230 235 240  
 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu  
 245 250 255  
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
 260 265 270  
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
 275 280 285  
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
 290 295 300  
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn  
 305 310 315 320  
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp  
 325 330 335  
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro  
 340 345 350  
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
 355 360 365  
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn  
 370 375 380  
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
 385 390 395 400  
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
 405 410 415  
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
 420 425 430  
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
 435 440 445  
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
 450 455 460  
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 465 470

5 <210> 12  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <400> 12  
 Asn Tyr Leu Ile Glu  
 1 5

15 <210> 13  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 13

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

20 <210> 14  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

ES 2 674 420 T3

<400> 14

Ser Asp Tyr Asp Tyr Val Thr Tyr Ala Met Asp Tyr  
 1 5 10

5

<210> 15

<211> 107

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

10

<400> 15

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

15

<210> 16

<211> 236

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

20

<400> 16

ES 2 674 420 T3

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

<210> 17  
 <211> 236  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> cadena ligera del anticuerpo quimérico

10

<400> 17

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

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

<210> 18  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 18

Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr Leu Ile  
 1 5 10

<210> 19  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 19

Arg Thr Asn Arg Leu Val Asp  
 1 5

<210> 20  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 20

Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Phe Thr  
 1 5

<210> 21  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 21

ES 2 674 420 T3

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

Thr Leu Thr Val Ser Ser 100 105 110  
 115

5 <210> 22  
 <211> 461  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <400> 22

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys  
 20 25 30  
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
 35 40 45  
 Thr Asp Tyr Tyr Met Lys Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Ile Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Asp Thr Phe Tyr Asn  
 65 70 75 80  
 Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ser Ser  
 85 90 95  
 Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val  
 100 105 110  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gly Asn Tyr Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly  
 115 120 125  
 Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser  
 130 135 140  
 Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val  
 145 150 155 160  
 Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 165 170 175  
 Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 180 185 190  
 Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro  
 195 200 205  
 Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro  
 210 215 220  
 Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly  
 225 230 235 240  
 Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile  
 245 250 255  
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys  
 260 265 270  
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln  
 275 280 285  
 Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln  
 290 295 300  
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu  
 305 310 315 320  
 Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg  
 325 330 335  
 Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 340 345 350  
 Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro  
 355 360 365  
 Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr  
 370 375 380  
 Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln  
 385 390 395 400  
 Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asn Thr Asn Gly  
 405 410 415  
 Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu  
 420 425 430  
 Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn

435 440 445  
 His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

<210> 23  
<211> 467  
<212> PRT  
5 <213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> cadena pesada del anticuerpo quimérico  
  
10 <400> 23

ES 2 674 420 T3

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Gly Gly  
1 5 10 15  
Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys  
20 25 30  
Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
35 40 45  
Thr Asp Tyr Tyr Met Lys Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu  
50 55 60  
Glu Trp Ile Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Asp Thr Phe Tyr Asn  
65 70 75 80  
Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ser Ser  
85 90 95  
Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val  
100 105 110  
Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gly Asn Tyr Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly  
115 120 125  
Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
130 135 140  
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
145 150 155 160  
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
165 170 175  
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
180 185 190  
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
195 200 205  
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
210 215 220  
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
225 230 235 240  
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
245 250 255  
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
260 265 270  
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
275 280 285  
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
290 295 300  
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
305 310 315 320  
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
325 330 335  
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
340 345 350  
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
355 360 365  
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
370 375 380  
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
385 390 395 400  
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
405 410 415  
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

ES 2 674 420 T3

```

                420                425                430
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
                435                440                445
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
                450                455                460
Pro Gly Lys
                465

```

5 <210> 24  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <400> 24  
 Asp Tyr Tyr Met Lys  
 1 5

15 <210> 25  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 25

```

Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1           5           10           15
Gly

```

20 <210> 26  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

25 <400> 26

```

Asp Gly Asn Tyr Ala Tyr Phe Asp Tyr
1           5

```

30 <210> 27  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

35 <400> 27

```

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

```

<210> 28  
 <211> 238

ES 2 674 420 T3

<212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 28

5

```

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

      65      70      75      80
Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
      85      90      95
Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
      100      105      110
Gln His Ser Arg His Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
      115      120      125
Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
      130      135      140
Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu
      145      150      155      160
Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly
      165      170      175
Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser
      180      185      190
Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp
      195      200      205
Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr
      210      215      220
Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
      225      230      235
    
```

<210> 29  
 <211> 238  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> cadena ligera del anticuerpo quimérico

15

<400> 29

ES 2 674 420 T3

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

<210> 30  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

5

<400> 30

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His  
 1 5 10 15

10

<210> 31  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

15

<400> 31

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser  
 1 5

20

<210> 32  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

25

<400> 32

Gln His Ser Arg His Leu Pro Trp Thr  
 1 5

ES 2 674 420 T3

<210> 33  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

5  
 <400> 33

```

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

10  
 <210> 34  
 <211> 462  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

15  
 <400> 34

```

Met Glu Trp Thr Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
1          5          10          15
Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Gly Asp Leu Met Lys
20          25          30
Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ala Gly Tyr Thr Phe
35          40          45
Ser Asn Tyr Tyr Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu
50          55          60
Glu Trp Ile Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Asn
65          70          75          80
Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Ser Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn
85          90          95
Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
100         105         110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Ala Arg Glu Pro Gly Phe Pro Tyr Trp
115         120         125
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro
130         135         140
Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met
145         150         155         160
Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
    
```

					165					170					175	
Val	Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser	Leu	Ser	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	
			180					185					190			
Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Asp	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser	Val	Thr	Val	
		195					200					205				
Pro	Ser	Ser	Thr	Trp	Pro	Ser	Glu	Thr	Val	Thr	Cys	Asn	Val	Ala	His	
	210					215					220					
Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Ile	Val	Pro	Arg	Asp	Cys	
225					230					235					240	
Gly	Cys	Lys	Pro	Cys	Ile	Cys	Thr	Val	Pro	Glu	Val	Ser	Ser	Val	Phe	
				245					250					255		
Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Leu	Thr	Pro	
			260					265					270			
Lys	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Ile	Ser	Lys	Asp	Asp	Pro	Glu	Val	
		275					280					285				
Gln	Phe	Ser	Trp	Phe	Val	Asp	Asp	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	
	290					295					300					
Gln	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Ser	Val	Ser	Glu	
305					310					315					320	
Leu	Pro	Ile	Met	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys	
				325					330					335		
Arg	Val	Asn	Ser	Ala	Ala	Phe	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	
			340					345					350			
Lys	Thr	Lys	Gly	Arg	Pro	Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Ile	Pro	Pro	
		355					360					365				
Pro	Lys	Glu	Gln	Met	Ala	Lys	Asp	Lys	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Met	Ile	
	370					375					380					
Thr	Asp	Phe	Phe	Pro	Glu	Asp	Ile	Thr	Val	Glu	Trp	Gln	Trp	Asn	Gly	
385					390					395					400	
Gln	Pro	Ala	Glu	Asn	Tyr	Lys	Asn	Thr	Gln	Pro	Ile	Met	Asn	Thr	Asn	
				405					410					415		
Gly	Ser	Tyr	Phe	Val	Tyr	Ser	Lys	Leu	Asn	Val	Gln	Lys	Ser	Asn	Trp	
			420					425					430			
Glu	Ala	Gly	Asn	Thr	Phe	Thr	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Gly	Leu	His	
		435					440					445				
Asn	His	His	Thr	Glu	Lys	Ser	Leu	Ser	His	Ser	Pro	Gly	Lys			
	450					455					460					

<210> 35  
 <211> 468  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> cadena pesada del anticuerpo quimérico

10

<400> 35



ES 2 674 420 T3

<210> 36  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*  
 5  
 <400> 36  
  
 Asn Tyr Tyr Ile Glu  
 1 5  
 10  
 <210> 37  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*  
 15  
 <400> 37  
  
 Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
 1 5 10 15  
 Gly  
 20  
 <210> 38  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*  
 25  
 <400> 38  
  
 Trp Gly Ala Arg Glu Pro Gly Phe Pro Tyr  
  
 1 5 10  
 30  
 <210> 39  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*  
 35  
 <400> 39  
  
 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 Gly 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 Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
 100 105  
 40  
 <210> 40  
 <211> 238  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*  
 <400> 40

ES 2 674 420 T3

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

- 5 <210> 41
- <211> 238
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> cadena ligera del anticuerpo quimérico
- <400> 41

Met Gly Ile Lys Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Tyr Met Leu

15

ES 2 674 420 T3

```

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

```

5 <210> 42  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 42

```

10           Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala
                1           5           10

```

15 <210> 43  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 43

```

20           Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
                1           5

```

25 <210> 44  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 44

```

Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Leu Thr
1           5

```

ES 2 674 420 T3

<210> 45  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

5

<400> 45

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

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Gln Asn Ile  
 65 70 75 80  
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Thr Tyr  
 85 90 95  
 Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Asp Gly Tyr Tyr Glu Tyr Tyr Phe Asp Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser  
 115 120

10

<210> 46  
 <211> 466  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

15

<400> 46

ES 2 674 420 T3

Met Lys Leu Trp Leu Asn Trp Ile Phe Leu Val Thr Leu Leu Asn Gly  
1 5 10 15  
Ile Gln Cys Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln  
20 25 30  
Pro Gly Gly Ser Leu Ser Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
35 40 45  
Thr Asp Tyr Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu  
50 55 60  
Glu Trp Leu Ala Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu  
65 70 75 80  
Tyr Asn Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser  
85 90 95  
Gln Asn Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Arg Ala Glu Asp Ser  
100 105 110  
Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Asp Gly Tyr Tyr Glu Tyr Tyr  
115 120 125  
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys  
130 135 140  
Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln  
145 150 155 160  
Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro  
165 170 175  
Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val  
180 185 190  
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser  
195 200 205  
Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys  
210 215 220  
Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val  
225 230 235 240  
Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val  
245 250 255  
Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile  
260 265 270  
Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp  
275 280 285  
Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His  
290 295 300  
Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg  
305 310 315 320  
Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
325 330 335  
Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu  
340 345 350  
Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr  
355 360 365  
Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu  
370 375 380  
Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp  
385 390 395 400

Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile  
405 410 415  
Met Asn Thr Asn Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln  
420 425 430  
Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His  
435 440 445  
Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro  
450 455 460  
Gly Lys  
465

<210> 47  
 <211> 472  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> cadena pesada del anticuerpo químico

<400> 47

10

```

Met Lys Leu Trp Leu Asn Trp Ile Phe Leu Val Thr Leu Leu Asn Gly
 1      5      10      15
Ile Gln Cys Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20      25      30
Pro Gly Gly Ser Leu Ser Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35      40      45
Thr Asp Tyr Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu
 50      55      60
Glu Trp Leu Ala Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu
 65      70      75      80
Tyr Asn Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
 85      90      95
Gln Asn Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Arg Ala Glu Asp Ser
 100     105     110
Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Asp Gly Tyr Tyr Glu Tyr Tyr
 115     120     125
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser
 130     135     140
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 145     150     155     160
Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 165     170     175
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 180     185     190
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 195     200     205
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
 210     215     220
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
 225     230     235     240
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 245     250     255
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 260     265     270
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 275     280     285
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 290     295     300
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 305     310     315     320
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 325     330     335
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 340     345     350
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 355     360     365
    
```

ES 2 674 420 T3

```

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
  370                               375                               380
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 385                               390                               395
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
                               405                               410                               415
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
                               420                               425                               430
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
                               435                               440                               445
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
                               450                               455                               460
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465                               470

```

5 <210> 48  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 48

10 Asp Tyr Tyr Met Asn  
 1 5

15 <210> 49  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 49

20 Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Ala Ser  
 1 5 10 15  
 Val Lys Gly

25 <210> 50  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 50

30 Asp Ser Asp Gly Tyr Tyr Glu Tyr Tyr Phe Asp Tyr  
 1 5 10

35 <210> 51  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 51

ES 2 674 420 T3

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

<210> 52  
 <211> 236  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

5

<400> 52

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

10

<210> 53  
 <211> 236  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> cadena ligera del anticuerpo quimérico

<400> 53

```

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

```

```

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

```

5

<210> 54  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10

<400> 54

```

Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Asp Tyr Leu Ser
1      5      10

```

15

<210> 55  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

20

<400> 55

```

Ala Ala Ser Thr Leu Asp Ser
1      5

```

25

<210> 56  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

ES 2 674 420 T3

<400> 56

Leu Gln Tyr Ala Ser Tyr Pro Tyr Thr  
 1 5

5

<210> 57  
 <211> 1857  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

10

<400> 57

atggtctccc	cacggatgtc	cgggctcctc	tcccagactg	tgatcctagc	gctcattttc	60
ctccccaga	cacggcccgc	tggcgtcttc	gagctgcaga	tccactcttt	cgggcccggg	120
ccagggcctg	gggcccgcg	gtccccctgc	agcggcccgc	tcccctgccg	cctctttctc	180
agagtctgcc	tgaagcctgg	gctctcagag	gaggccgcg	agtccccgtg	cggcctgggc	240
gcggcgctga	gtgcgcgcgg	accggtctac	accgagcagc	ccggagcgc	cgcgcctgat	300
ctcccactgc	ccgacggcct	cttgaggtg	cccttccggg	acgcctggcc	tggcaccttc	360
tctttcatca	tcgaaacctg	gagagaggag	ttaggagacc	agattggagg	gcccgcctgg	420
agcctgctgg	cgcgcgtggc	tggcaggcgg	cgcttggcag	ccggaggccc	gtgggcccgg	480
gacattcagc	gocgagggcg	ctgggagctg	cgcttctcgt	accgcgcgcg	ctgcgagccg	540
cctgccgtcg	ggaccgcgtg	cacgcgcctc	tgccgtccgc	gcagcgcgcc	ctcgcggtgc	600
ggtccgggac	tgcccccctg	cgcaccgctc	gaggacgaat	gtgaggcgc	gctggtgtgc	660
cgagcaggct	gcagccctga	gcatggcttc	tgtgaacagc	ccggtgaatg	ccgatgccta	720
gagggtcga	ctggaccctc	ctgcacggtc	cctgtctcca	ccagcagctg	cctcagcccc	780
agggcccctg	cctctgctac	caccggatgc	cttgtccctg	ggcctggggc	ctgtgacggg	840
aaccctgtgt	ccaatggagg	cagctgtagt	gagacaccca	ggtcctttga	atgcacctgc	900
ccgcgtgggt	tctaogggct	gocggtgtgag	gtgagcgggg	tgacatgtgc	agatggacct	960
tgcttcaacg	gcggcttgtg	tgtcgggggt	gcagaccctg	actctgccta	catctgccac	1020
tgcccacccg	gtttccaagg	ctccaactgt	gagaagaggg	tggaccgggtg	cagcctgcag	1080
ccatgccgca	atggcggaact	ctgcctggac	ctgggccaacg	ccctgcgctg	ccgctgcgc	1140
gcccgtctcg	cgggtcctcg	ctgcgagcac	gacctggacg	actgcgcggg	ccgcgcctgc	1200
gctaacggcg	gcacgtgtgt	ggagggcggc	ggcgcgcacc	gctgctcctg	cgcgctgggc	1260
ttcggcggcc	gcgactgccg	cgagcgcgcg	gaccctgctg	ccgcgcgcc	ctgtgctcac	1320
ggcggccgct	gctacgcca	cttctccggc	ctcgtctcgc	cttgcgctcc	cggctacatg	1380
ggagcgcgg	gtgagttccc	agtgcacccc	gacggcgcga	gcgccttgcc	cgcggccccg	1440
ccgggcctca	ggcccgggga	ccctcagcgc	taccttttgc	ctccggctct	gggactgctc	1500
gtggccgcgg	gcgtggccgg	cgctgcgctc	ttgctggtcc	acgtgcgcgg	ccgtggccac	1560
tcccaggatg	ctgggtctcg	cttgcctggc	gggaccccgg	agccgtcagt	ccacgcactc	1620
ccggatgcac	tcaacaacct	aaggacgcag	gagggttccg	gggatggtcc	gagctcgtcc	1680
gtagattgga	atogccctga	agatgtagac	cctcaaggga	tttatgtcat	atctgctcct	1740
tccatctacg	ctcgggaggt	agcgcgcgcc	cttttccccc	cgctacacac	tgggcgcgct	1800
gggcagaggg	agcacctgct	ttttccctac	ccttctctcga	ttctgtccgt	gaaatga	1857

15

<210> 58  
 <211> 1758  
 <212> ADN  
 <213> *Mus musculus*

20

<400> 58

ES 2 674 420 T3

atggtctctc	tgcaggtgtc	tccgctttcc	cagacgetga	tectggettt	tctttctcct	60
caggcactgc	cagctgggtgt	cttcgagcta	caaattcatt	cttcggggcc	aggcccaggc	120
ctcgggaccc	cacgctcccc	ctgcaacgcc	cgaggccctt	gccgcctctt	cttcagggtc	180
tgcctgaagc	ccggagtctc	ccaggaggcc	accgagtccc	tgtgcccctt	gggcccagca	240
ctgagcacga	gcctcccggg	ctatacggag	caccccggag	agtccagggc	tgccctgccg	300
ctgcctgatg	gcctcgtacg	tgtgcccttc	cgcgatgctt	ggccgggcac	cttctccctc	360
gtcattgaaa	cctggagaga	gcagctggga	gagcatgctg	gagggcccg	ctggaacctg	420
ctagcacgtg	tggtcggccc	tagacgcctg	gcggctgggg	gcccgtgggc	ccgcgatgtg	480
cagcgcacag	gcacatggga	gttgcacttc	tcctaccgcg	cgcggtgcga	gcccccgcgc	540
gtcggggccg	cctgcgcgcg	cctgtgccgc	tcacgcagtg	ccccctcgcg	gtgtggcccg	600
ggactgcgac	cctgcacgcc	attcccagac	gagtgcgaag	ccccgtctgt	gtgtcgacca	660
ggctgcagcc	ccgagcacgg	ctactgtgaa	gagcctgatg	aatgccgttg	cctggagggc	720
tggactggac	ccctctgcac	ggtccctgtc	tcaccagta	gctgcctgaa	ctccagggtt	780
cctggtcctg	ccagcaactg	atgcctttta	cctgggcctg	gaccttgtga	tgggaacca	840
tgtgccaatg	ggggcagctg	tagtgaaacc	tctggctcct	ttgaatgtgc	ctgtcccccg	900
gattctacg	ggcttcgatg	tgaggtgagc	ggggtcacgt	gcgcagatgg	accctgcttc	960
aatgcgggct	tgtgtgttgg	cggtgaagat	cctgactctg	cctatgtctg	tcattgccc	1020
cctggtttcc	aaggctctaa	ctgtgagaag	agggtggacc	gctgtagcct	gcagccatgt	1080
cagaatggcg	gcctctgcct	ggacctgggc	cacgcgttgc	gctgccgctg	tcgcgcggga	1140
ttcgcggggc	cgcgctgcga	gcacgacctg	gacgactgcg	ccggccgcgc	ctgtgccaac	1200
ggcggcacgt	gcgtggaggg	cggcggctcg	cgccgctgct	cctgtgcgct	gggcttcggc	1260
gggcgcgact	gccgagaacg	cgccgacccc	tgcgcctccc	gcccctgcgc	gcatggaggc	1320
cgttgctacg	cccacttctc	tggcctggtc	tgcgcctgcg	cgcccggcta	catgggctgt	1380
agatgcgagt	tcgctgtgcg	cccggacggc	gcggacgcgg	tgcccgcgcg	cccgcggggc	1440
ctgaggcagg	cggatccaca	gcgctttctt	ctgcctcccg	ccttggggct	gctggtggcc	1500
gccggtttgg	ctggcgcccg	actcttggtc	atccacgttc	gccgcccagg	tcctggccag	1560
gataccggga	ctcgcctgct	ttctgggacc	cgggagcctt	cggtccacac	gctcccggat	1620
gcactcaaca	acctgaggtt	acaagacggg	gctggggatg	gccccagttc	gtcggctgac	1680
tggaatcatc	ctgaagatgg	agactctaga	tcattttatg	tcataccagc	cccttcatt	1740
tatgcacgag	aggcctga					1758

- <210> 59
- <211> 2172
- <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*
- <400> 59

5

ES 2 674 420 T3

atgggcagtc	ggtgcgcgct	ggccctggcg	gtgctctcgg	cettgctgtg	tcaggtctgg	60
agctctgggg	tgttcgaact	gaagctgcag	gagttcgtca	acaagaaggg	gctgctgggg	120
aaccgcaact	gctgccgchg	gggchggggg	ccaccgcggt	gchgctgccg	gacctctctc	180
cgcggtgtgc	tcaagcacta	ccaggccagc	gtgtcccccg	agccgcctcg	cacctacggc	240
agcgccgtca	cccccgctgt	gggchgctgac	tccttcagtc	tgcccgacgg	cgggggcgcc	300
gactccgchg	tcagcaaccc	catccgcttc	cccttcgggt	tcacctggcc	gggcaccttc	360
tctctgatta	ttgaagctct	ccacacagat	tctcctgatg	acctcgcaac	agaaaacca	420
gaaagactca	tcagccgctt	ggccacccag	aggcacctga	cggtggcgga	ggagtggctc	480
caggacctgc	acagcagchg	ccgcacggac	ctcaagtact	cctaccgctt	cgtgtgtgac	540
gaacactact	acggagaggg	ctgctccggt	ttctgcgctc	cccgggacga	tgccttcggc	600
cacttcacct	gtggggagcg	tggggagaaa	gtgtgcaacc	ctggctggaa	agggccctac	660
tgcacagagc	cgatctgcct	gcttgatgtg	gatgagcagc	atggattttg	tgacaaaacca	720
ggggaatgca	agtgcagagt	gggctggcag	ggccggtact	gtgacgagtg	tatccgctat	780
ccaggctgtc	tccatggcac	ctgccagcag	ccctggcagt	gcaactgcca	ggaaggctgg	840
gggggccttt	tctgcaacca	ggacctgaac	tactgcacac	accataagcc	ctgcaagaat	900
ggagccacct	gcaccaacac	gggcccgggg	agctacactt	gctcttgccg	gcctgggtac	960
acaggtgcc	cctgchgagc	ggggattgac	gagtgtgacc	ccagcccttg	taagaacgga	1020
gggagctgca	cggatctcga	gaacagctac	tcctgtacct	gcccacccgg	cttctacggc	1080
aaaatctgtg	aattgagtgc	catgaacctg	gcgacggcc	cttgctttaa	cgggggctcg	1140
tgctcagaca	gccccgatgg	agggtacagc	tgcgctgccc	ccgtgggcta	ctccggcttc	1200
aactgtgaga	agaaaattga	ctactgcagc	tcttcacctt	gttctaattg	tgccaagtgt	1260
gtggacctcg	gtgatgccta	cctgtgcccc	tgcagggccg	gcttctcggg	gaggcactgt	1320
gacgacaacg	tggacgactg	cgctctctcc	ccgtgcgcca	acgggggac	ctgccgggat	1380
ggcgtgaacg	acttctcctg	cacctgcccg	cctggctaca	cgggcaggaa	ctgcagtgcc	1440
cccgtcagca	ggtgchgagc	cgcacccctgc	cacaatgggg	ccacctgcca	cgagaggggg	1500
caccgctatg	tgtgchgagt	tgccccgggc	tacggggggt	ccaactgcca	gttctctgct	1560
cccgagctgc	ccccgggccc	agcgggtggtg	gacctcactg	agaagctaga	gggcccaggcc	1620

gggccattcc	cctgggtggc	cgtgtgchg	ggggtcatcc	ttgtcctcat	gctgctgctg	1680
ggctgtgccc	ctgtggtggt	ctgchgctcg	ctgaggctgc	agaagcaccg	gccccagcc	1740
gaccctgcc	ggggggagac	ggagaccatg	aacaacctgg	ccaactgcca	gchggtgaga	1800
gacatctcag	tcagcatcat	cgggggccacg	cagatcaaga	acaccaacaa	gaaggcggac	1860
ttccacgggg	accacagchg	cgacaagaat	ggcttcaagg	cccgtacctc	agcgggtggc	1920
tataacctcg	tgcaggacct	caagggtgac	gacaccgccc	tcagggacgc	gcacagcaag	1980
cgtgacacca	agtgccagcc	ccagggctcc	tcaggggagg	agaaggggac	cccagccaca	2040
ctcaggggtg	gagaagcatc	tgaaagaaaa	aggccggact	cgggctgttc	aacttcaaaa	2100
gacaccaagt	accagtcggt	gtacgtcata	tcogaggaga	aggatgagtg	cgtcatagca	2160
actgaggtgt	aa					2172

<210> 60  
 <211> 7668  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 60

ES 2 674 420 T3

atgcgcgcgc	tccctggcgcc	cctgctctgc	ctggcgctgc	tgcccgcgct	cgccgcacga	60
ggcccgcgat	gctcccagcc	cggtgagacc	tgccatgaatg	gcggaagtg	tgaagcggcc	120
aatggcacgg	aggcctgcgt	ctgtggcggg	gccttcgtgg	gcccgcgatg	ccaggacccc	180
aaccogtgcc	tcagcacccc	ctgcaagaac	gcccggacat	gccacgtggt	ggaccgcaga	240
ggcgtggcag	actatgcctg	cagctgtgcc	ctgggcttct	ctgggcccct	ctgcctgaca	300
cccctggaca	atgcctgcct	caccaacccc	tgccgcaacg	ggggcacctg	cgacctgctc	360
acgctgacgg	agtacaagtg	ccgctgcccg	cccggctggt	cagggaaatc	gtgccagcag	420
gctgacctcg	gcgcctccaa	cccctgcgcc	aacgggtggc	agtgcctgcc	cttcgaggcc	480
tcctacatct	gccactgccc	accagcttc	catggcccca	cctgccggca	ggatgtcaac	540
gagtgtggcc	agaagcccgg	gctttgccgc	cacggaggca	cctgccacaa	cgaggtcggc	600
tcctaccogt	gcgtctgccg	cgccaccac	actggcccca	actgcgagcg	gccctactgtg	660
ccctgcagcc	cctgcacctg	ccagaacggg	ggcactgcc	gccccacggg	cgacctcacc	720
cacgagtgtg	cctgcctgcc	aggcttcacc	ggccagaact	gtgaggaaaa	tatcgacgat	780
tgtccaggaa	acaactgcaa	gaacgggggt	gcctgtgtgg	acggcgtgaa	cacctacaac	840
tgccgctgcc	cgccagagtg	gacaggtcag	tactgtaccg	aggatgtgga	cgagtgccag	900
ctgatgccaa	atgcctgcca	gaacggcggg	acctgccaca	acaccacggg	tggctacaac	960
tgcggtgtg	tcaacggctg	gactggtgag	gactgcagcg	agaacattga	tgactgtgcc	1020
agcgcgcgct	gcttccacgg	cgccacctgc	catgacctg	tggcctcett	ctactgcgag	1080
tgtcccatg	gcccacacag	tctgctgtgc	cacctcaacg	acgcatgcat	cagcaacccc	1140
tgtaacgagg	gctccaactg	cgacaccaac	cctgtcaatg	gcaaggccat	ctgcacctgc	1200
ccctcggggg	acacggggcc	ggcctgcagc	caggacgtgg	atgagtgtct	gtgggtgcc	1260
aaccocctgcg	agcatgcggg	caagtgcac	aacacgctgg	gctccttcga	gtgccagtgt	1320
ctgcagggct	acacggggcc	ccgatgcgag	atcgacgtca	acgagtgcgt	ctcgaacccc	1380
tgccagaacg	acgccacctg	cctggaccag	attggggagt	tccagtgcac	ctgcatgccc	1440
ggctacgagg	gtgtgcaactg	cgaggtcaac	acagacgagt	gtgccagcag	cccctgcctg	1500
cacaatggcc	gctgcctgga	caagatcaat	gagttccagt	gcgagtgcc	cacgggcttc	1560
actgggcatc	tgtgccagta	cgatgtggac	gagtgtgcca	gcaccccctg	caagaatggt	1620
gccaagtgcc	tggacggacc	caacacttac	acctgtgtgt	gcacgggaagg	gtacacgggg	1680
acgcactg	aggtggacat	cgatgagtgc	gaccccgacc	cctgccacta	cgccctctgc	1740
aaggacggcg	tcgccacctt	cacctgcctc	tgcccggccag	getacacggg	ccaccactgc	1800
gagaccaaca	tcaacgagtg	ctccagccag	ccctgcccgc	acggggggcac	ctgccaggac	1860
cgcgacaacg	cctacctctg	cttctgcctg	aaggggacca	caggacccaa	ctgcgagatc	1920
aacctggatg	actgtgccag	cagcccctgc	gactcgggca	cctgtctgga	caagatcgat	1980
ggctacgagt	gtgcctgtga	gcccggctac	acagggagca	tgtgtaacat	caacatcgat	2040
gagtgtgcgg	gcaaccccctg	ccacaacggg	ggcacctgcg	aggacggcat	caatggcttc	2100
acctgcccgt	gccccgaggg	ctaccacgac	cccacctgcc	tgtctgaggt	caatgagtgc	2160
aacagcaacc	cctgcgtcca	cggggcctgc	cgggacagcc	tcaacgggta	caagtgcgac	2220
tgtgacctg	ggtggagtgg	gaccaactgt	gacatcaaca	acaatgagtg	tgaatccaac	2280
ccttgtgtca	acggcggcac	ctgcaaagac	atgaccagtg	gctacgtgtg	cacctgcggg	2340
gagggttca	gcggctccaa	ctgccagacc	aacatcaacg	agtgtgcgtc	caacccatgt	2400
ctgaaccagg	gcacgtgtat	tgacgacgtt	gcccgggtaca	agtgcaactg	cctgctgccc	2460
tacacaggtg	ccacgtgtga	ggtggtgctg	gcccctgtg	ccccagccc	ctgcagaaac	2520
ggcggggagt	gcaggcaatc	cgaggactat	gagagcttct	cctgtgtctg	ccccacgggc	2580
tggcaagggc	agacctgtga	ggtcgacatc	aacgagtgcg	ttctgagccc	gtgccggcac	2640
ggcgcatcct	gccagaacac	ccacggcggc	taccgctgcc	actgccaggc	cggtacagt	2700
ggcgcaact	gcgagaccga	catcgacgac	tgccggccca	acctgtgtca	ccggggggc	2760
tcctgcacag	acggcatcaa	cacggccttc	tgccgactgcc	tgcccgctt	caacgggact	2820
ttctgtgagg	aggacatcaa	cgagtgtgcc	agtgacctct	gcccgaacgg	ggccaactgc	2880

ES 2 674 420 T3

acggactgcg	tggacagcta	cacgtgcacc	tgccccgcag	gcttcagcgg	gatccactgt	2940
gagaacaaca	cgctgactg	cacagagagc	tcctgcttca	acggtggcac	ctgctgtggac	3000
ggcatcaact	cgttcacctg	cctgtgtcca	cccggcttca	cgggcagcta	ctgccagcac	3060
gatgtcaatg	agtgcgactc	acagccctgc	ctgcatggcg	gcacctgtca	ggacggctgc	3120
ggctcctaca	ggtgcacctg	ccccagggc	tacactggcc	ccaactgcca	gaaccttgtg	3180
cactggtgtg	actcctcgcc	ctgcaagaac	ggcggcaaat	gctggcagac	ccacaccag	3240
taccgtcgcg	agtgccccag	cggctggacc	ggcctttact	gcgacgtgcc	cagcgtgtcc	3300
tgtgaggtgg	ctgocgagcg	acaaggtgtt	gacgttgccc	gcctgtgcca	gcatggaggg	3360
ctctgtgtgg	acgcgggcaa	cacgcaccac	tgcctgtgcc	aggcgggcta	cacaggcagc	3420
tactgtgagg	acctggtgga	cgagtgtcca	cccagcccct	gccagaacgg	ggccacctgc	3480
acggactacc	tgggocgcta	ctcctgcaag	tgcctggccg	gctaccacgg	ggtgaactgc	3540
tctgaggaga	tcgacgagtg	cctctcccac	ccctgccaga	acgggggcac	ctgcctcgac	3600
ctccccaaaca	cctacaagtg	ctcctgcccc	cggggcactc	agggtgtgca	ctgtgagatc	3660
aactgtgacg	actgcaatcc	ccccgttgac	cccgtgtccc	ggagccccc	gtgctttaac	3720
aacggcacct	gcgtggacca	ggtgggcggc	tacagctgca	cctgcccgcc	gggcttctgt	3780
ggtgagcgct	gtgaggggga	tgtcaacgag	tgcctgtcca	atccctgcca	cgcccgtggc	3840
accgcaact	gcgtgcagcg	cgtaaatgac	ttccactgcg	agtgcctgct	tggtcacacc	3900
gggcgcccgt	gcgagtcctg	catcaatggc	tgcaaaaggca	agccctgcaa	gaatgggggc	3960
acctgcgccc	tggcctccaa	caccgcccgc	gggttcatct	gcaagtgcc	tgcgggcttc	4020
gagggcgcca	cgtgtgagaa	tgacgctcgt	acctgcggca	gcctgcgctg	cctcaacggc	4080
ggcacatgca	tctccggccc	gcgcagcccc	acctgcctgt	gcctgggccc	cttcacgggc	4140
cccgaatgcc	agttcccggc	cagcaagccc	tgcctggggc	gcaaccctg	ctacaaccag	4200
gggacctgtg	agcccacatc	cgagagcccc	ttctaccgtt	gcctgtgccc	cgccaaatc	4260
aacgggctct	tgtgccacat	cctggactac	agcttccggg	gtggggccgg	gcgcgacatc	4320
cccccgccgc	tgatcgagga	ggcgtgcgag	ctgcccagat	gccaggagga	cgccggcaac	4380
aaggtctgca	gcctgcagtg	caacaaccac	gcgtgcggct	gggacggcgg	tgactgctcc	4440
ctcaacttca	atgaccctct	gaagaactgc	acgcagtctc	tgcagtgctg	gaagtacttc	4500
agtacggcc	actgtgacag	ccagtcaaac	tcagccggct	gcctcttcca	cggttctgac	4560
tgcacgctg	cggaaggcca	gtgcaacccc	ctgtacgacc	agtactgcaa	ggaccacttc	4620
agcgacgggc	actgocgacca	gggctgcaac	agcggcggag	gcgagtggga	cgggctggac	4680
tgtcgggagc	atgtacccca	gaggtggcg	gcccgcagc	tgggtggtgt	ggtgtgatg	4740
ccgcgggagc	agctgcgcaa	cagctccttc	cacttcctgc	gggagctcag	ccgcgtgctg	4800
caaccaaacg	tggctctcaa	gcgtgacgca	caeggccagc	agatgatctt	cccctactac	4860
ggccgcgagg	aggagctgcg	caagcacccc	atcaagcgtg	ccgccgaggg	ctgggcccga	4920
cctgacgccc	tgctgggcca	ggtgaaggcc	tcgctgctcc	ctggtggcag	cgaggggtgg	4980
cggcggcgga	gggagctgga	ccccatggac	gtccgcggct	ccatcgtcta	cctggagatt	5040
gacaaccggc	agtgtgtgca	ggcctcctcg	cagtgtctcc	agagtgccac	cgacgtggcc	5100
gcattcctgg	gagcgtctgc	ctcgtggggc	agcctcaaca	tcccctacaa	gatcgaggcc	5160
gtgcagagtg	agaccgtgga	gccgcccccg	ccggcgagc	tgcacttcat	gtacgtggcg	5220
gcggccgccc	ttgtgcttct	gttcttcgtg	ggctgcgggg	tgctgctgtc	ccgcaagcgc	5280
cggcggcagc	atggccagct	ctggttccct	gagggcttca	aagtgtctga	ggccagcaag	5340
aagaagcggc	gggagcccct	cggcagggac	tccgtggggc	tcaagcccct	gaagaacgct	5400
tcagacggtg	ccctcatgga	cgacaaccag	aatgagtggg	gggacgagga	cctggagacc	5460
aagaagtctc	ggttcgagga	gcccgtggtt	ctgcctgacc	tggacgacca	gacagaccac	5520
cggcagtgga	ctcagcagca	cctggatgcc	gctgacctgc	gcatgtctgc	catggccccc	5580
acaccgcccc	aggggtgaggt	tgacgcccag	tgcattggac	tcaatgtccg	cgggcctgat	5640
ggcttcaccc	cgctcatgat	cgcctcctgc	agcggggcg	gcctggagac	gggcaacagc	5700
gaggaagagg	aggacgcgcc	ggccgtcatc	tcogacttca	tctaccaggg	cgccagcctg	5760
cacaaccaga	cagaccgcac	ggcgagacc	gccttgacc	tggccgcccg	ctactcacgc	5820
tctgatgccc	ccaagcgcct	gctggaggcc	agcgcagatg	ccaacatcca	ggacaacatg	5880
ggccgcaccc	cgctgcatgc	ggctgtgtct	gccgacgcac	aaggtgtctt	ccagatcctg	5940
atccggaacc	gagccacaga	cctggatgcc	cgcatgcatg	atggcacgac	gccactgatc	6000
ctcgtgccc	gcctggccgt	ggaggcctg	ctggaggacc	tcatcaactc	acacgccgac	6060
gtcaacgccc	tagatgacct	ggcgaagtcc	gccctgcaact	gggcccgcgc	cgtgaacaat	6120
gtggatgccc	cagttgtgct	cctgaagaac	ggggctaaca	aagatatgca	gaacaacagg	6180
gaggagacac	ccctgtttct	ggccgcccgg	gagggcagct	acgagaccgc	caaggtgctg	6240
ctggaccact	ttgccaaccc	ggacatcacg	gatcatatgg	accgcctgcc	gcgcgacatc	6300
gcacagagc	gcatgcatca	cgacatcgtg	aggctgctgg	acgagtacaa	cctggtgccc	6360
agcccgcagc	tgcacggagc	cccgtgggg	ggcacgccc	ccctgtcgcc	cccgtctgct	6420
tcgcccacg	gctacctggg	cagcctcaag	cccggcgtgc	agggcaagaa	ggtccgcaag	6480
ccagcagca	aaggcctggc	ctgtggaagc	aaaggagcca	aggacctcaa	ggcacggagg	6540
aagaagtccc	aggacggcaa	ggcctgcctg	ctggacagct	ccggcatgct	ctcggcccgtg	6600
gactccctgg	agtcaaccca	tggctacctg	tcagacgtgg	cctgcgccc	actgctgccc	6660

ES 2 674 420 T3

```

tccccgttcc agcagtctcc gtccgtgccc ctcaaccacc tgcoctgggat gcccgacacc 6720
cacctgggca tcgggcacct gaacgtggcg gccaaagccc agatggcggc gctgggtggg 6780
ggcggccggc tggcctttga gactggcca cctcgtctct cccacctgcc tgtggcctct 6840
ggcaccagca cogtcctggg ctocagcagc ggaggggccc tgaatttcac tgtgggcggg 6900
tccaccagtt tgaatggtca atgcgagtgg ctgtcccggc tgcagagcgg catggtgccc 6960
aaccaataca accctctgcg ggggagtgtg gcaccaggcc ccctgagcac acaggccccc 7020
tccctgcagc atggcatggt aggcccgctg cacagttagc ttgctgccag cggcctgtcc 7080
cagatgatga gctaccaggg cctgcccagc acccggtgg ccaccagcc tcacctggtg 7140
cagaccagc aggtgcagcc aaaaaactta cagatgcagc agcagaacct gcagccagca 7200
aacatccagc agcagcaaag cctgcagccg ccaccaccac caccacagcc gcacctggc 7260
gtgagctcag cagccagcgg ccacctgggc cggagcttcc tgagtggaga gccgagccag 7320
gcagacgtgc agccactggg ccccagcagc ctggcgggtgc acactattct gccccaggag 7380
agccccgccc tgcccacgtc gctgocatcc tcgctggtcc caccogtgac cgcagcccag 7440
ttcctgacgc cccctcgcga gcacagctac tcctcgcctg tggacaacac ccccagccac 7500
cagctacagg tgctgagca ccccttcctc acccogtccc ctgagtcccc tgaccagtgg 7560
tccagctcgt ccccgcatto caacgtctcc gactggtccg agggcgtctc cagccctccc 7620
accagcatgc agtcccagat cgcocgcatt ccggaggcct tcaagtaa 7668

```

5 <210> 61  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> artificial

10 <220>  
 <223> enlazador artificial  
 <400> 61

Gly Gly Gly Ser  
 1

15 <210> 62  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> artificial

20 <220>  
 <223> enlazador artificial  
 <400> 62

Ser Gly Gly Gly  
 1

30 <210> 63  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> artificial

35 <220>  
 <223> enlazador artificial  
 <400> 63

Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5

40 <210> 64  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> artificial

<220>

ES 2 674 420 T3

<223> enlazador artificial

<400> 64

5

**Ser Gly Gly Gly Gly**  
1 5

<210> 65

<211> 6

<212> PRT

10

<213> artificial

<220>

<223> enlazador artificial

15

<400> 65

**Gly Gly Gly Gly Gly Ser**  
1 5

<210> 66

20

<211> 6

<212> PRT

<213> artificial

<220>

25

<223> enlazador artificial

<400> 66

**Ser Gly Gly Gly Gly Gly**  
1 5

30

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial

35

<220>

<223> enlazador artificial

<400> 67

40

**Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser**  
1 5

<210> 68

45

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial

<220>

50

<223> enlazador artificial

<400> 68

**Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly**  
1 5

55

<210> 69

<211> 475

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 69

ES 2 674 420 T3

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

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

ES 2 674 420 T3

<211> 472  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

5 <400> 70

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

ES 2 674 420 T3

Thr Gln Asn Pro Cys Pro Pro Leu Lys Glu Cys Pro Pro Cys Ala Ala  
 245 250 255  
 Pro Asp Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile  
 260 265 270  
 Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Met Val Thr Cys Val Val  
 275 280 285  
 Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val  
 290 295 300  
 Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp  
 305 310 315 320  
 Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln  
 325 330 335  
 Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Arg Ala  
 340 345 350  
 Leu Pro Ser Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Arg Gly Pro Val  
 355 360 365  
 Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Ala Glu Glu Met Thr  
 370 375 380  
 Lys Lys Glu Phe Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Gly Phe Leu Pro Ala  
 385 390 395 400  
 Glu Ile Ala Val Asp Trp Thr Ser Asn Gly Arg Thr Glu Gln Asn Tyr  
 405 410 415  
 Lys Asn Thr Ala Thr Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr  
 420 425 430  
 Ser Lys Leu Arg Val Gln Lys Ser Thr Trp Glu Arg Gly Ser Leu Phe  
 435 440 445  
 Ala Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His Leu Thr Thr Lys  
 450 455 460  
 Thr Ile Ser Arg Ser Leu Gly Lys  
 465 470

<210> 71  
 <211> 477  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

5

<400> 71

ES 2 674 420 T3

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

ES 2 674 420 T3

Asn	Val	Ala	His	Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Ile	Glu
225					230					235					240
Pro	Arg	Val	Pro	Ile	Thr	Gln	Asn	Pro	Cys	Pro	Pro	Leu	Lys	Glu	Cys
				245					250					255	
Pro	Pro	Cys	Ala	Ala	Pro	Asp	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Ile
			260				265						270		
Phe	Pro	Pro	Lys	Ile	Lys	Asp	Val	Leu	Met	Ile	Ser	Leu	Ser	Pro	Met
			275				280					285			
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Glu	Asp	Asp	Pro	Asp	Val	Gln
	290					295					300				
Ile	Ser	Trp	Phe	Val	Asn	Asn	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln
305					310					315					320
Thr	His	Arg	Glu	Asp	Tyr	Asn	Ser	Thr	Leu	Arg	Val	Val	Ser	Ala	Leu
				325					330						335
Pro	Ile	Gln	His	Gln	Asp	Trp	Met	Ser	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys	Lys
			340					345					350		
Val	Asn	Asn	Arg	Ala	Leu	Pro	Ser	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
		355					360					365			
Pro	Arg	Gly	Pro	Val	Arg	Ala	Pro	Gln	Val	Tyr	Val	Leu	Pro	Pro	Pro
		370				375						380			
Ala	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Lys	Glu	Phe	Ser	Leu	Thr	Cys	Met	Ile	Thr
385					390					395					400
Gly	Phe	Leu	Pro	Ala	Glu	Ile	Ala	Val	Asp	Trp	Thr	Ser	Asn	Gly	Arg
				405					410					415	
Thr	Glu	Gln	Asn	Tyr	Lys	Asn	Thr	Ala	Thr	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
			420					425					430		
Ser	Tyr	Phe	Met	Tyr	Ser	Lys	Leu	Arg	Val	Gln	Lys	Ser	Thr	Trp	Glu
		435					440					445			
Arg	Gly	Ser	Leu	Phe	Ala	Cys	Ser	Val	Val	His	Glu	Gly	Leu	His	Asn
	450					455					460				
His	Leu	Thr	Thr	Lys	Thr	Ile	Ser	Arg	Ser	Leu	Gly	Lys			
465					470						475				

## REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo que se une a la proteína DLL3 como principio activo, en la que el anticuerpo tiene una actividad citotóxica.
2. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la actividad citotóxica es una actividad citotóxica celular dependiente de anticuerpos (actividad ADCC).
3. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en la que el anticuerpo tiene una actividad de internalización.
4. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el anticuerpo está conjugado con una sustancia citotóxica.
5. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el anticuerpo reconoce una región de los aminoácidos 216 a 492 en la DLL3 humana que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 1.
6. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el anticuerpo se selecciona de anticuerpos que se unen a la proteína DLL3 descrita en cualquiera de los siguientes:
  - (1) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 12, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 13 y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 14, y una región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 18, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 19, y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 20;
  - (2) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 24, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 25 y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 26, y una región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 30, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 31, y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 32;
  - (3) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 36, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 37 y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 38, y una región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 42, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 43, y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 44;
  - (4) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la CDR1 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 48, la CDR2 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 49 y la CDR3 de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 50, y una región variable de la cadena ligera que comprende la CDR1 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 54, la CDR2 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 55 y la CDR3 de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 56;y
  - (5) un anticuerpo que se une al mismo epítipo que el de la proteína DLL3 al que se une cualquiera de los anticuerpos (1) a (4).
7. Una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso en un método para tratar el cáncer, en la que el agente anticanceroso se dirige al cáncer de pulmón.

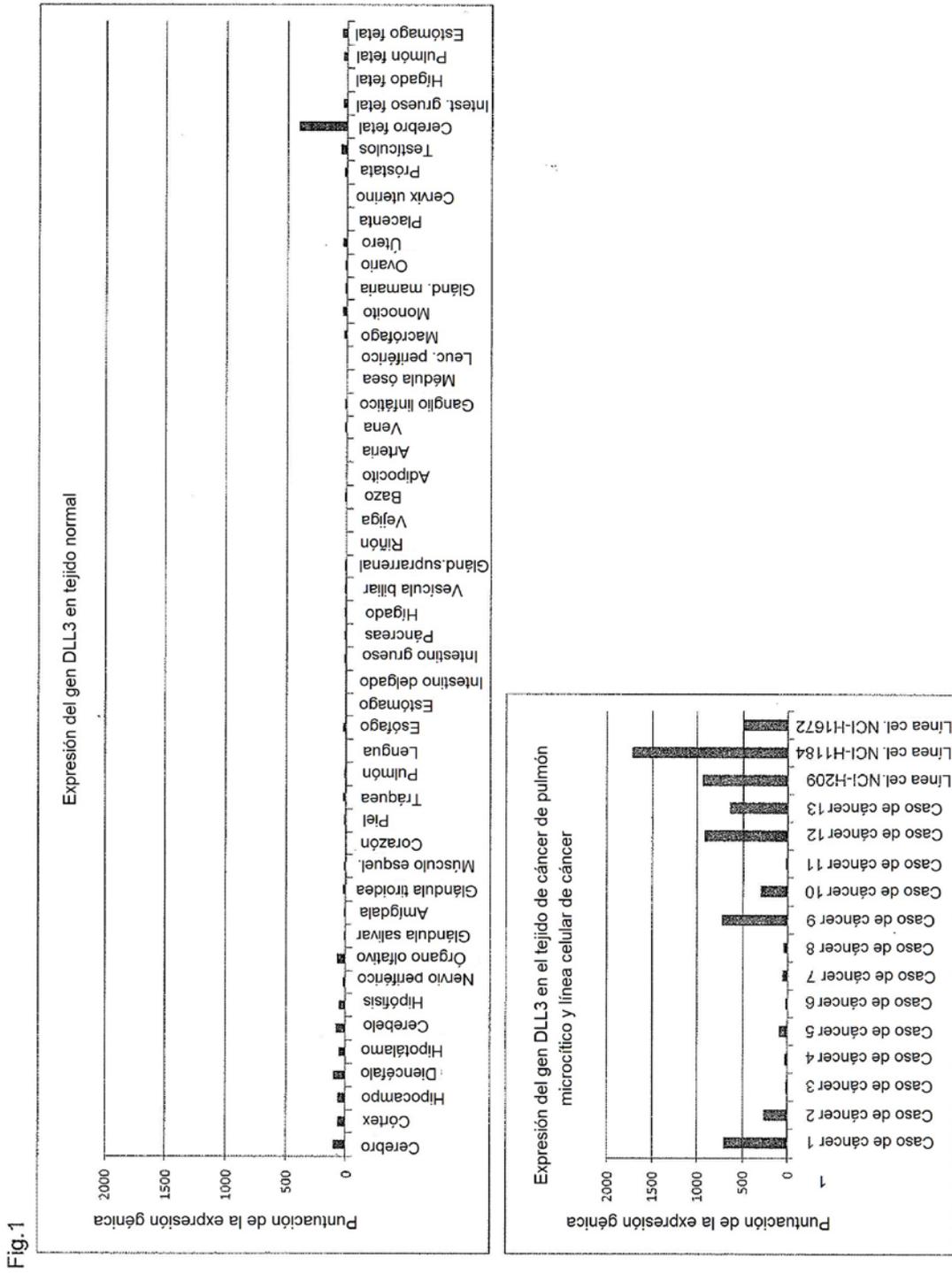
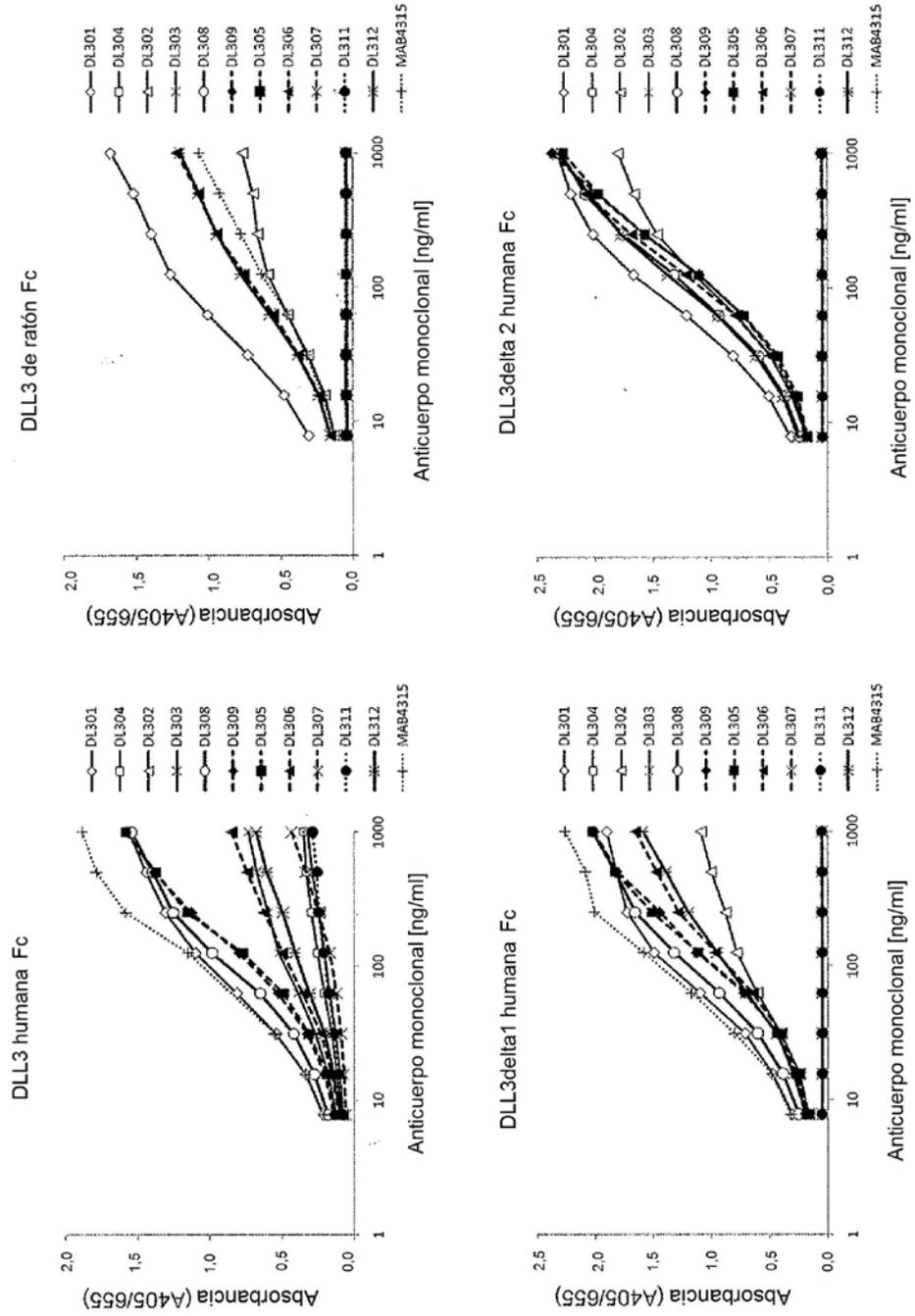


Fig.2



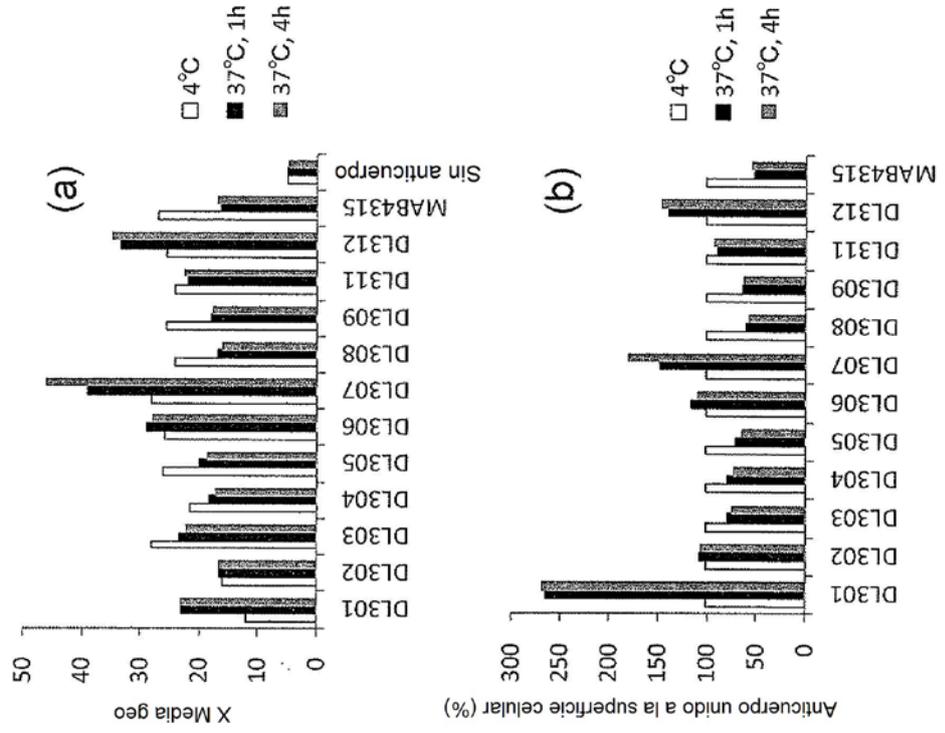


Fig.3

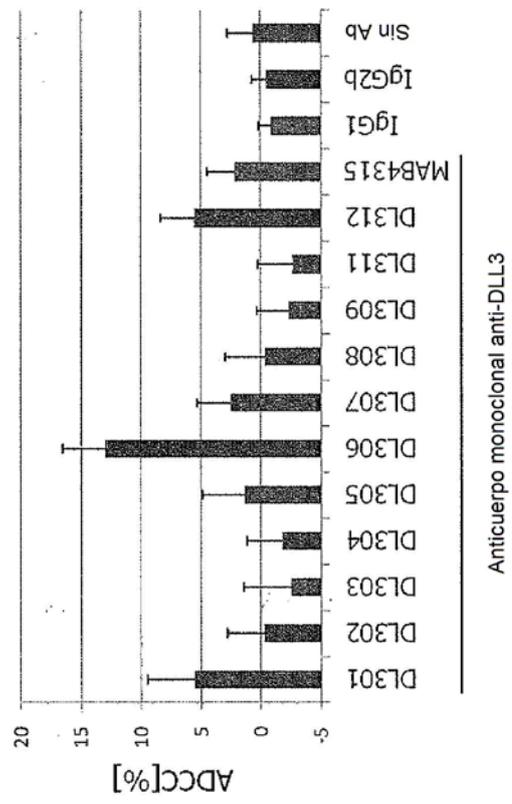
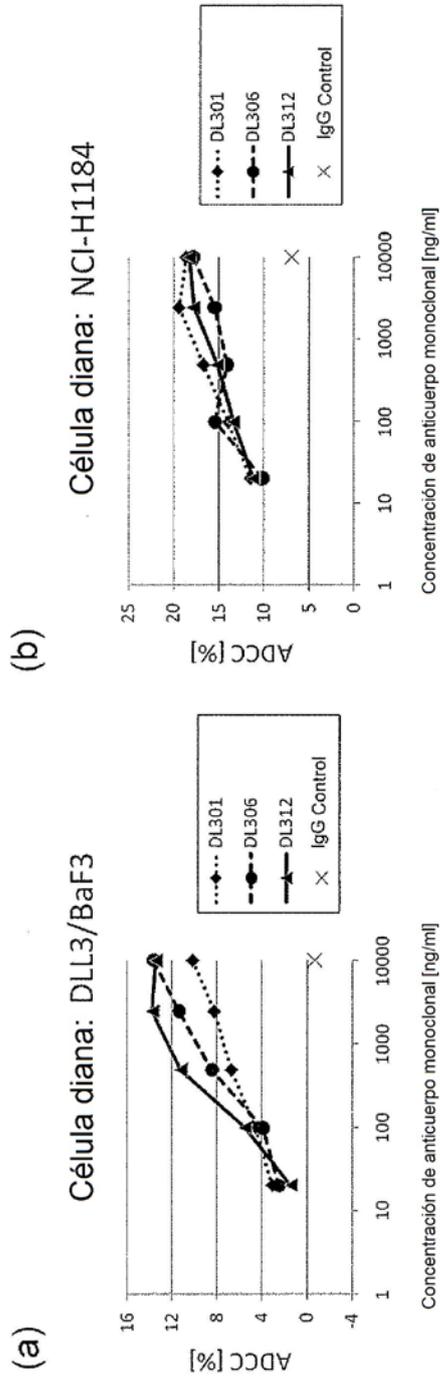


Fig.4

Fig.5



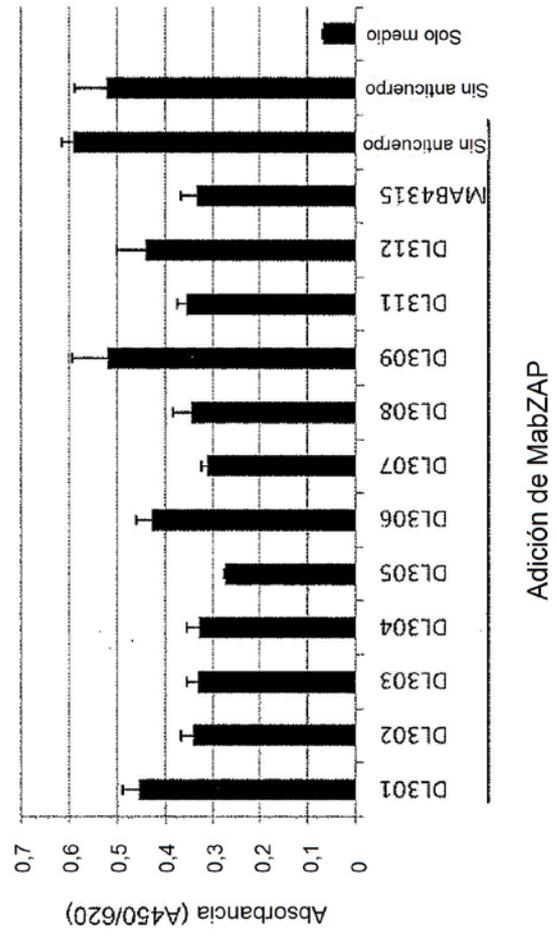
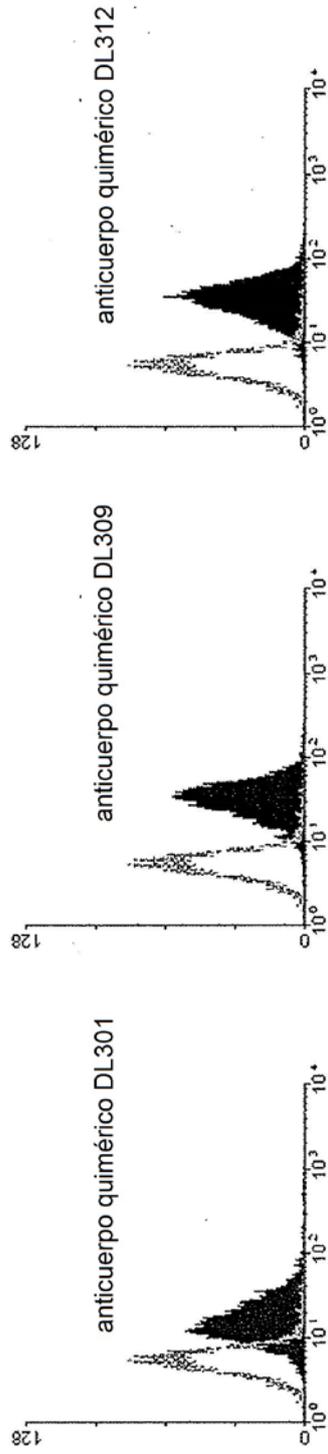


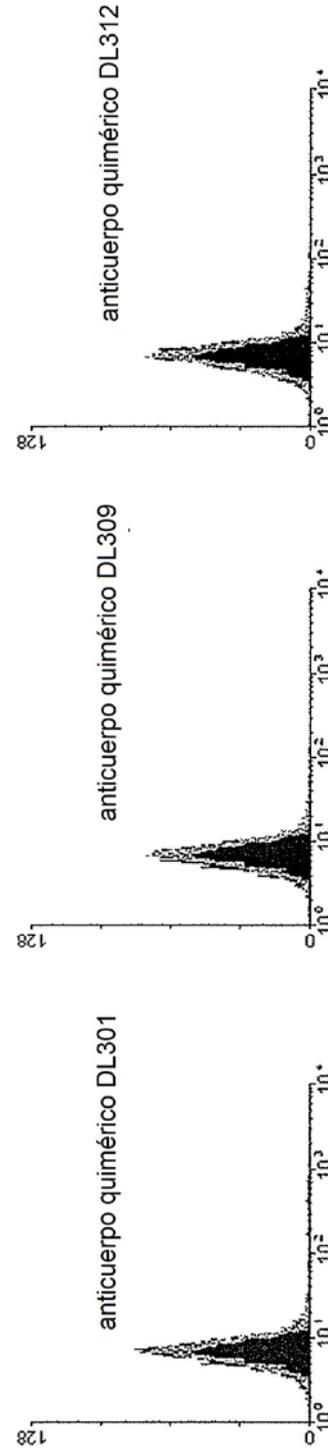
Fig.6

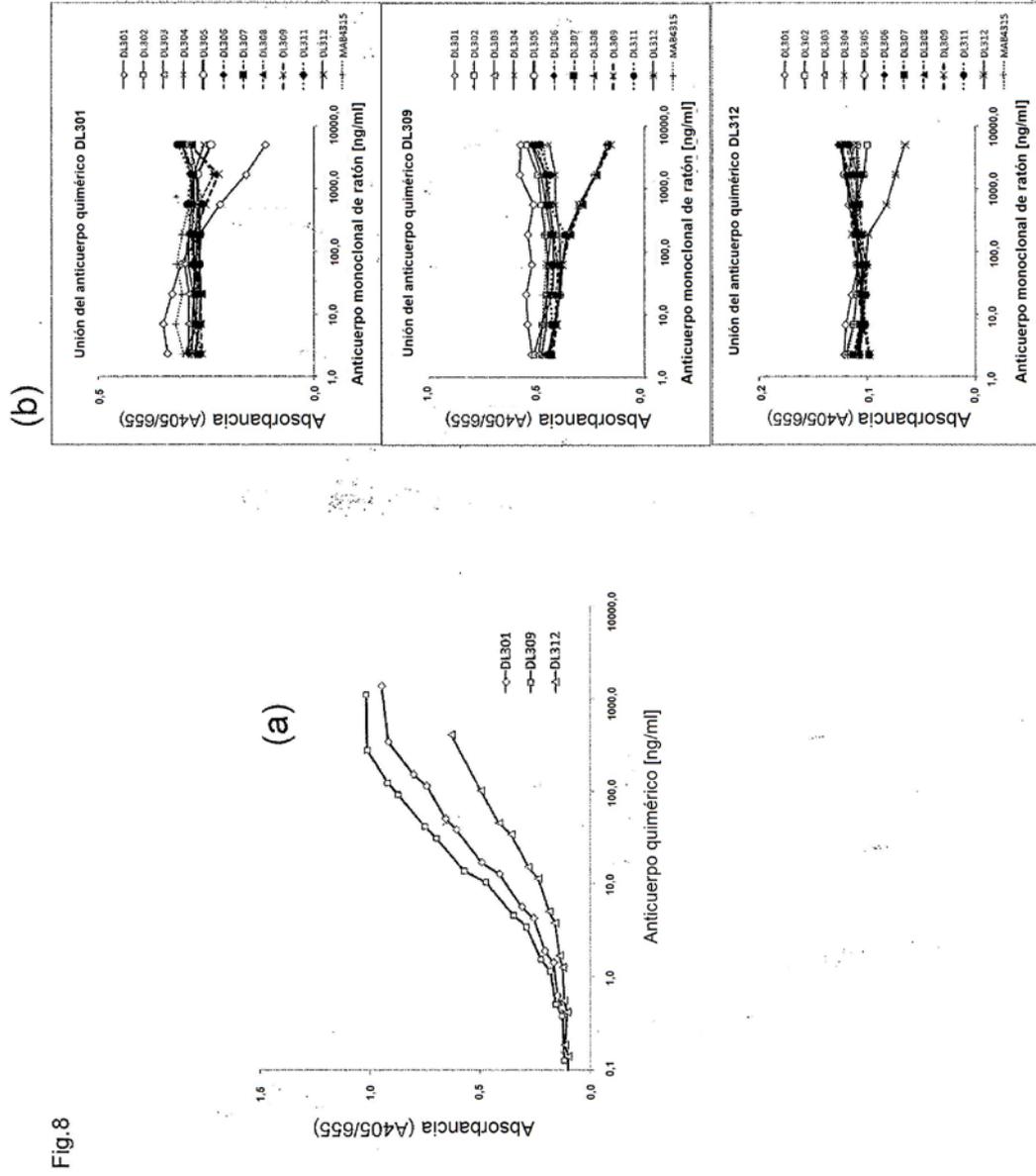
Fig.7

(a) DLL3 humana/BaF3



(b) Ba/F3





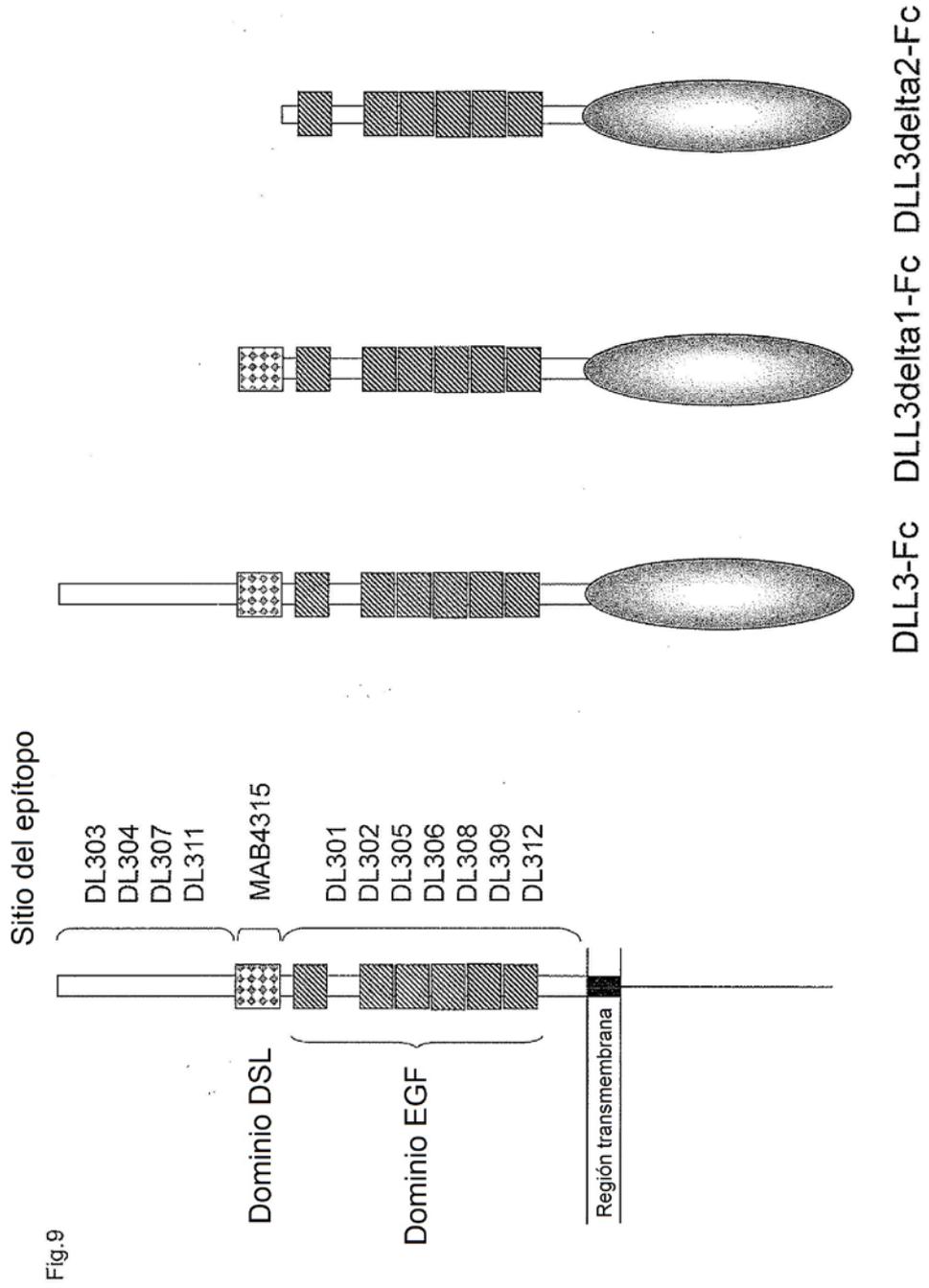


Fig. 10

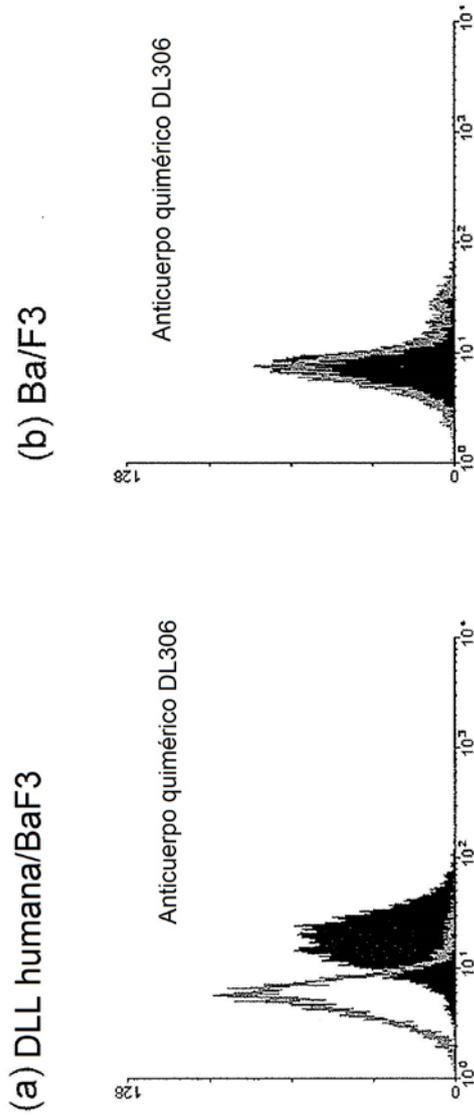


Fig.11

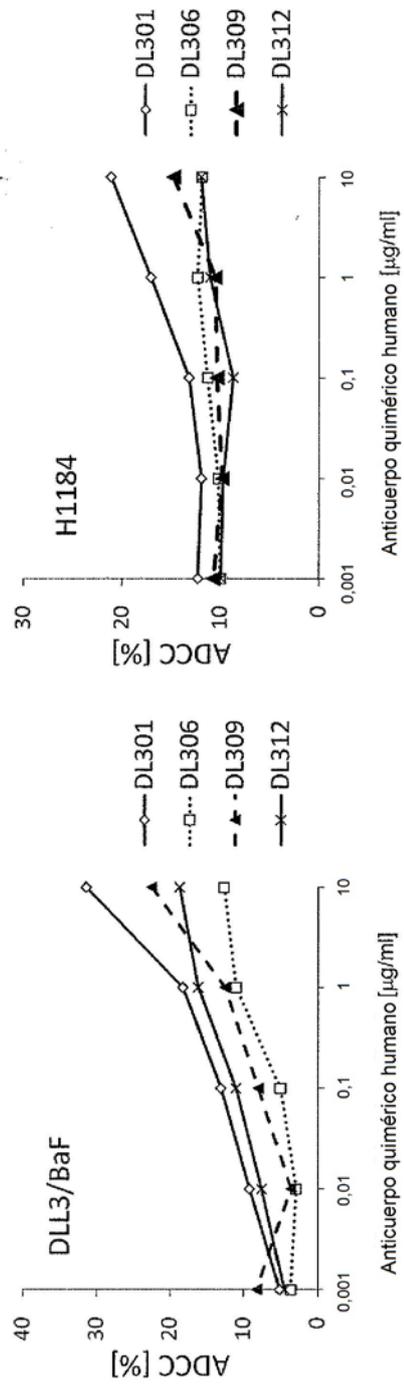


Fig.12

